

Dissertation

Freddy Sichtung

Beiträge zur biomechanischen Charakterisierung
faseriger Bindegewebe

2016

Beiträge zur biomechanischen Charakterisierung faseriger Bindegewebe

Zur Erlangung des akademischen Grades

doctor rerum naturalium

(Dr. rer. nat.)

vorgelegt

der Fakultät für Human- und Sozialwissenschaften

der Technischen Universität Chemnitz

von: Freddy Sichtung, M.Sc

geboren am 21.09.1987 in Dresden

eingereicht am 01.02.2016

Gutachter:

Prof. Dr. Thomas L. Milani (TU Chemnitz)

PD Dr. Hanno Steinke (Universität Leipzig)

JP Dr. Christian Maiwald (TU Chemnitz)

Tag der Verteidigung: 29.06.2016

URL: <http://nbn-resolving.de/urn:nbn:de:bsz:ch1-qucosa-207308>

Dem Zufall sei Dank.

Bibliografische Beschreibung

Sichting, Freddy

Beiträge zur biomechanischen Charakterisierung faseriger Bindegewebe

Technische Universität Chemnitz, Dissertation

58 Seiten¹, 126 Lit.², 13 Abbildungen, 7 Anlagen

Kurzreferat:

Im Mittelpunkt dieser kumulativ angefertigten Arbeit stehen fünf verschiedenartige biomechanische Untersuchungen faseriger Bindegewebe, welche in einer Gesamtschau zusammengeführt werden. Die einzelnen Beiträge setzen sich zusammen aus Untersuchungen zum Einfluss zellulärer Bestandteile auf die mechanischen Eigenschaften faseriger Bindegewebe und die Beeinflussung dieser Ergebnisse durch Messfehler, speziell am Beispiel des Materialschlupfs. Über diese beiden Beiträge wird eine Verbindung hergestellt zur rechnergestützten Simulation der Wirkung eines Beckenkompressionsgurts auf die Bänder des Beckenrings und dem Transmissionsverhalten faseriger Bindegewebe bei Zugbelastung. Im fünften Beitrag wird am Beispiel des Zusammenwirkens von Achillessehne, Fersenfettpolster und Plantarfaszie in vitro die Komplexität der Betrachtung faseriger Bindegewebe aufgezeigt. Die Zusammenführung der einzelnen Untersuchungen wird begleitet von der Frage, ob die bestehenden biomechanischen Untersuchungsansätze ausreichend sind, um ein umfassendes Verständnis zur funktionellen Bedeutung faseriger Bindegewebe aufbauen zu können.

¹ Seitenzahl des kumulativen Anteils der Arbeit

² Zahl der im Literaturverzeichnis ausgewiesenen Literaturangaben

Inhaltsverzeichnis

1	Motivation und Struktur der Arbeit.....	1
2	Grundlagen faseriger Bindegewebe.....	5
2.1	Entstehung und Bestandteile faseriger Bindegewebe.....	6
2.1.1	Zur Entstehung faseriger Bindegewebe	6
2.1.2	Die zellulären Bestandteile	7
2.1.3	Die extrazellulären Bestandteile	9
2.2	Arten faseriger Bindegewebe	11
2.3	Funktion und Eigenschaften faseriger Bindegewebe	13
2.3.1	Funktionen faseriger Bindegewebe im Überblick	13
2.3.2	Mechanische Eigenschaften straffer Bindegewebe	14
2.3.3	Faserige Bindegewebe als Bestandteil sensomotorischer Kontrolle	16
3	Eigene Beiträge zur biomechanischen Untersuchung faseriger Bindegewebe.....	21
3.1	Do Cells Contribute to Tendon and Ligament Biomechanics?	22
3.2	Quantification of material slippage in the iliotibial tract when applying the partial plastination clamping technique	25
3.3	Pelvic Belt Effects on Sacroiliac Joint Ligaments: A Computational Approach to Understand Therapeutic Effects of Pelvic Belts	28
3.4	Combined spectrophotometry and tensile measurements of human connective tissues: potentials and limitations	30
3.5	The heel pad paradox revisited: observations on the functional relationship between plantar heel pad, Achilles tendon and plantar fascia	32
4	Abschlussdiskussion	35
5	Schlussbemerkung	45
6	Literaturverzeichnis	47
7	Abbildungsverzeichnis.....	57
8	Anlagen	61

1 Motivation und Struktur der Arbeit

Als Holger Badstuber, Fußballer des FC Bayern München und deutscher Nationalspieler, im Jahr 2013 nach erneuter Kreuzbandverletzung vor die Wahl gestellt wurde, einer neuartigen US-amerikanischen Methode zu folgen und das gesunde Kreuzband eines Toten transplantiert zu bekommen, lehnte er diesen Eingriff ab. „Aus ethischen Gründen und auch, weil es damit zu wenige Erfahrungswerte gibt“, so Badstuber (Focus Online, 2013). Dabei wird in der Wissenschaft der Einsatz von Kreuzbändern oder ähnlichen faserigen Bindegeweben, welche von Körperspendern stammen und in einem speziellen Verfahren von sämtlichen zellulären Bestandteilen befreit werden, um das Abstoßungsrisiko zu minimieren, als vielversprechender Transplantationsansatz diskutiert (Herbert et al., 2015). Worin liegen die mangelnden Erfahrungswerte begründet? In Hinblick auf den multidisziplinär zusammengesetzten Stab an Betreuern von Holger Badstuber, welcher ihm beratend und behandelnd zur Seite steht, könnten verschiedene Bedenken gegenüber der neuartigen Methode geäußert worden sein. Denkbar sind aus orthopädischer Sicht die fehlenden Erfahrungswerte zur mechanischen Belastbarkeit der zellbefreiten Bänder, oder zur Auswirkung des Kreuzbandersatzes auf die Kinematik des Kniegelenks. Aus therapeutischer Sicht hingegen sind es womöglich fehlende Erfahrungswerte zu den Folgen des Eingriffs auf die Muskel- und Bindegewebe des Knies, welche gegen einen solchen Eingriff an Holger Badstuber sprechen. Als zu groß mag sich zudem die Ungewissheit erwiesen haben, ob sich mit der neuen Methode eine natürliche Motorik wiedererlangen lässt. Nicht zuletzt lag die Ablehnung dieser neuen Methode vermutlich auch in der Unsicherheit von Holger Badstuber selbst begründet, in der folgenden Saison nicht gegen den Erzrivalen Borussia Dortmund einsatzbereit auf dem Platz stehen zu können.

Der Zusammenhang zwischen diesem Beispiel und dem Titel der Arbeit erschließt sich für den Leser womöglich nicht unmittelbar. Daher lohnt es sich, den Blick auf dieses Beispiel zu abstrahieren und die Kreuzbänder allgemeiner den faserigen Bindegeweben, jenen Körpergeweben, welche allgemein mit Bändern und Sehnen in Verbindung gebracht werden, zuzuordnen. Erst dann tritt die eigentliche Absicht dieses Beispiels hervor, den Leser gleich zu Beginn der Arbeit dafür zu sensibilisieren, wie vielschichtig und interdisziplinär die Betrachtungsmöglichkeiten faseriger Bindegewebe sind. Sie erstrecken sich von der mikroskopischen, zellorientierten Betrachtungsebene, über die makroskopische, strukturorientierte Betrachtungsebene, bis hin zur psychosozialen, personenorientierten Betrachtungsebene. Und obwohl das Beispiel des Kreuzbandes von Holger Badstuber nur einen Teil der tatsächlichen Komplexität und Reichweite faseriger Bindegewebe beschreibt, wird bereits offensichtlich, dass ein umfassendes Verständnis für die grundlegenden Zusammenhänge faseriger Bindegewebe eine Vielzahl von experimentellen Erfahrungswerten auf unterschiedlichen Betrachtungsebenen erfordert. Vielmehr noch erscheint das Zusammenführen der einzelnen Erkenntnisse für eine ganzheitliche Beschreibung faseriger Bindegewebe als unerlässlich. Kein einzelner Ansatz,

der sich mit dem faserigen Bindegewebe beschäftigt, ist für sich allein dafür geeignet und ausreichend. Die funktionelle Bedeutung faserige Bindegewebe kann nur durch den Blick aus verschiedenen Perspektiven sichtbar werden.

Mit dem Wunsch nach einer ganzheitlichen Betrachtung faseriger Bindegewebe, kommt jedoch die Frage auf, ob dies mit der üblichen wissenschaftlichen Herangehensweise gelingen kann, einer Herangehensweise, welche mit Hilfe analytischer, zerteilender Methoden „objektive“, „klare“ Werte schaffen möchte (Böcher, 1992). Auch die bestehenden biomechanischen Ansätze zur Untersuchung faseriger Bindegewebe folgen mehrheitlich einer solchen analytisch ausgerichteten Denkweise. Es wird versucht, das faserige Bindegewebe, ganz im Sinne von Hans-Peter Dürr, *greifbar* zu machen. Dazu wird es häufig aus seiner natürlichen Umgebung entbunden und in seine elementaren Bestandteile zerlegt. Kann dieser elementarorientierte Ansatz für die eigentlich entscheidenden Fragen ausreichend sein? Fragen wie: „Was ist faseriges Bindegewebe?“, „Wie ‚funktioniert‘ es?“, „Warum entsteht und passt es sich an?“ oder „Weshalb kommt es teilweise zu pathologischen Veränderungen?“. Fest steht, dass die Biomechanik mit ihren bestehenden Messmethoden und -techniken wesentliche Beiträge zur Beantwortung einiger der gestellten Fragen leisten kann. Doch wie weitreichend sind die Beiträge hinsichtlich eines umfassenden Erkenntnisstrebens?

Das Ziel dieser Arbeit ist es, mit Hilfe verschiedener biomechanischer Untersuchungen faseriger Bindegewebe die Eignung der bestehenden analyseorientierten Ansätze für eine ganzheitliche Betrachtung zu erörtern. Unter dieser Zielsetzung werden sowohl strukturbezogene als auch methodenorientierte Fragestellungen zu faserigen Bindegeweben vorgestellt. Mittels einer begründeten Gesamtschau der einzelnen Untersuchungen soll versucht werden, Verbindungen zwischen den einzelnen Ergebnissen herzustellen. Gleichzeitig soll beim Lesen ein Gefühl für die Relativität unseres derzeitigen Wissensstandes zu faserigen Bindegeweben erzeugt werden.

Um dies zu erreichen, wird sich der erste Teil dieser Arbeit zunächst mit den theoretischen Grundlagen zur Entstehung, den Arten und den Eigenschaften faseriger Bindegewebe beschäftigen. Die Inhalte wurden so gewählt, dass sie ein detailliertes Bild zu faserigen Bindegeweben im Allgemeinen und parallelfaserigen Bändern und Sehnen im Speziellen zeichnen, um so das Verständnis der nachfolgend zusammengefassten Studien zu fördern. Beispielsweise dient das Wissen zu den Bestandteilen faseriger Bindegewebe, dem Aufbau und den Aufgaben von Zellen und Fasern sowie dem Spannungs-Dehnungs-Verhalten des Faserverbunds bei mechanischer Zugbelastung als Grundlage für die Untersuchungen zum Einfluss von zellulären Bestandteilen oder Materialschlupf auf das mechanische Verhalten des Tractus iliotibialis. Auch die Argumentationen zum Transmissionsverhalten des Tractus iliotibialis bei

zyklischer Belastung oder die zur funktionellen Abhängigkeit faseriger Bindegewebe am Beispiel der Verbindung von Achillessehne, Fersenfettpolster und Plantarfaszie bauen auf den einführenden Grundlagen auf. Um der Diskussion zur Kompressionswirkung eines Beckengurts bei Patienten mit tiefem Rückenschmerz besser folgen zu können, hilft zudem das Wissen über die sensomotorische Funktion faseriger Bindegewebe.

Eine Zusammenführung der eigenen Untersuchungen folgt im dritten Teil dieser Arbeit, wobei sich die dazugehörigen Publikationen im Anhang befinden. Es wird empfohlen, im Anschluss an den Grundlagenteil mit dem Lesen der Publikationen im Anhang fortzufahren und anschließend zur Zusammenschau in Kapitel 3 zurückzukehren. Erst in der Beziehung der einzelnen Beiträge zueinander wird die Abhängigkeit der verschiedenen biomechanischen Untersuchungsansätze deutlich. Gleichzeitig soll über die Darstellung der eigenen Untersuchungen eine Vorstellung dafür entwickelt werden, wie unterschiedlich die Blickwinkel und Betrachtungsweisen faseriger Bindegewebe sein können.

Diese Verschiedenartigkeit aufgreifend, wird den abschließenden Teil dieser Arbeit die Leitfrage begleiten, welchen Beitrag die einzelnen analyseorientierten Ansätze für eine ganzheitlich orientierte Betrachtung faseriger Bindegewebe leisten können. Der daran geknüpfte Diskurs soll dazu anregen, über die aktuelle Betrachtung faseriger Bindegewebe, die sich daraus ergebenden Ansätze und die diese begleitenden Limitierungen nachzudenken und neue, bisher unberücksichtigte Sichtweisen zu erschließen. Aus persönlichem Empfinden heraus sind die bisherigen biomechanischen Betrachtungsweisen nicht ausreichend. Ein Anfang könnte damit gemacht werden, das bestehende Wissen zu faserigen Bindegeweben, einschließlich der eigenen Beiträge, sinnvoll zu verknüpfen.

2 Grundlagen faseriger Bindegewebe

2.1 Entstehung und Bestandteile faseriger Bindegewebe

2.1.1 Zur Entstehung faseriger Bindegewebe

Die Entstehung faseriger Bindegewebe folgt der kausalen Histogenese nach Friedrich Pauwels. Demnach differenzieren sich spezifische Gewebe nach genau definierten Umweltreizen (Pauwels, 1960; Kummer, 2005). Beginnend bei der Stammzelle differenziert sich neben dem Nerven-, Muskel- und Epithelgewebe zunächst der embryonale Vorläufer des faserigen Bindegewebes: das Mesenchym (Kummer, 2005; Stecco & Hammer, 2015) (Abb. 1).

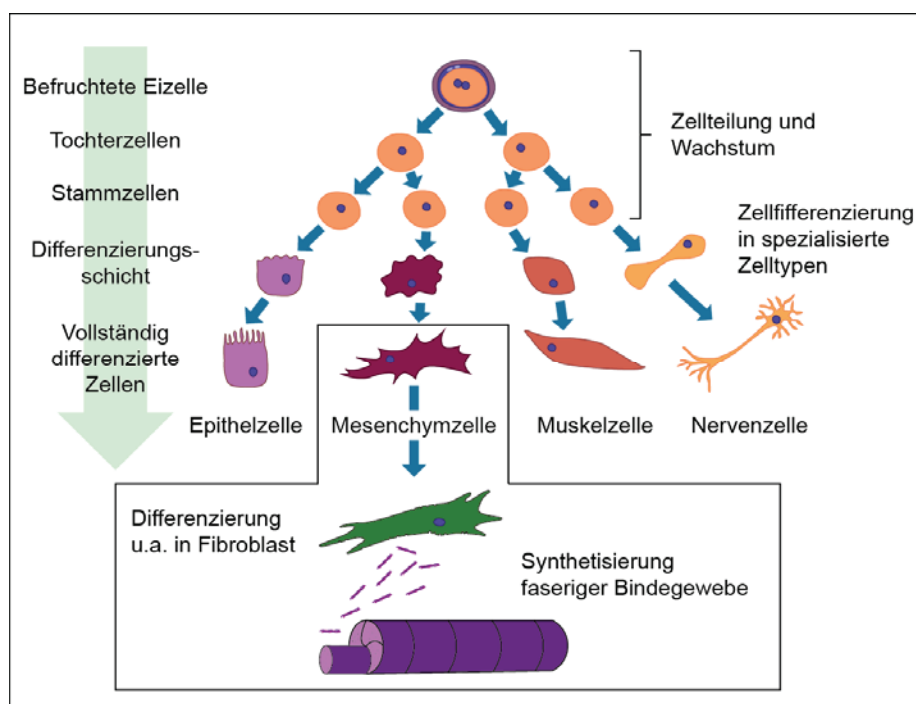


Abbildung 1: Faseriges Bindegewebe gehört neben dem Epithelgewebe, Muskelgewebe und Nervengewebe zu den Hauptgewebearten. Es differenziert sich nach genau definierten Umweltreizen, beginnend bei einer embryonalen Stammzelle. (Eigene Darstellung, in Anlehnung an Myers, 2010)

Für Pauwels führt anschließend eine Gestaltverzerrung des Mesenchyms zur Differenzierung von Fibroblasten (Pauwels, 1960). Gesteuert wird dieser Differenzierungsschritt durch ein komplexes Zusammenwirken von Signalprozessen und Zellinteraktionen (Benjamin & Ralphs, 2000). Mit der Differenzierung des Fibroblasten ist der zelluläre Grundbaustein für die Synthese sämtlicher faseriger Bindegewebe geschaffen. Das Wissen des nun beginnenden Entstehungsprozesses faseriger Bindegewebe, der Fibrollogenese, stammt nach der Auffassung von Benjamin und Ralphs (ebd.) hauptsächlich von Arbeiten zur Entwicklung von Sehnen bei Hühnern (Birk & Zycband, 1994). Diesen Arbeiten zufolge ordnen sich die Fibroblasten nach ihrer Differenzierung entlang zahlreicher längsverlaufender Reihen an und beginnen mit der

Produktion von Tropokollagen und weiteren extrazellulären Bestandteilen (Birk & Zycband, 1994). Für die weitere Entstehung und Ausdifferenzierung faseriger Bindegewebe sind nunmehr zwei Bestandteile von Bedeutung: die zellulären und die extrazellulären, welche im Folgenden näher dargelegt werden.

2.1.2 Die zellulären Bestandteile

Die zellulären Bestandteile des faserigen Bindegewebes sind für den Metabolismus des Gewebes verantwortlich (Stecco & Hammer, 2015). Hierzu gehören Makrophagen, Mastzellen, Lymphozyten, Plasmazellen, weiße Blutzellen und Adipozyten (Benjamin & Ralphs, 2000; Stecco & Hammer, 2015). Hinzu kommen Mesenchymalzellen und Fibroblasten. Bezogen auf den Aufbau und die Organisation des faserigen Bindegewebes sind die Fibroblasten die wichtigsten zellulären Bestandteile. Sie sind in allen faserigen Bindegeweben vorhanden (Benjamin & Ralphs, 2000).

Nach ihrer Differenzierung lagern sich die Fibroblasten reihenartig an und verbinden sich mit ihren Zellausläufern über mehrere Reihen miteinander (Benjamin & Ralphs, 1997). Durch diese Verbindungen, sogenannten *gap junctions*, entsteht ein einzigartiges Netzwerk aus Zell-Zell-Kanälen, welches einen übergreifenden Informationsaustausch ermöglicht (Gumbiner, 1995; Cukierman et al., 2002; Jiang & Grinnell, 2005). Über dieses Netzwerk wird die spätere Synthese strukturaufbauender sowie -abbauender Bestandteile gesteuert (Banes et al., 1995; Wang & Thampatty, 2006; Benjamin et al., 2008) (Abb. 2). Strukturaufbauende Bestandteile sind verschiedene Arten des Kollagens, Elastin, Proteoglykane und weitere Makromoleküle der Grundsubstanz (Eastwood et al., 1998; Kannus, 2000; McNulty, 2007). Kollagenase dagegen ist in der Lage, bestehende kollagene Vernetzungen enzymatisch aufzulösen und so Ab- und Umbauprozesse zu ermöglichen (Hentz et al., 2012).

Allgemein wird die Synthesetätigkeit der Fibroblasten hauptsächlich durch mechanische Reize gesteuert, welche von außen auf die Fibroblasten einwirken (Chiquet et al., 2003; Lengevin et al., 2006; Snedeker & Gautieri, 2014). Wird das Bindegewebe bewegt, werden strukturaufbauende Bestandteile ausgeschüttet und die extrazelluläre Matrix wird so an die Belastung angepasst (Wang et al., 2003; Yang et al., 2005; Arampatzis et al., 2007; Böhm et al., 2014). Bleibt die Bewegung dagegen aus, wird die extrazelluläre Matrix abgebaut (Grinnell, 2003; Stevens-Tuttle et al., 2009; Stecco & Hammer, 2015). So konnte beispielsweise in Reaktion auf ein körperliches Training eine gesteigerte Ausschüttung von Kollagen nachgewiesen werden (Suominen et al., 1980; Tipton et al., 1986; Michna & Hartmann, 1989; Langberg et al., 2001). Vermutet wird dabei, dass die mechanischen Reize von einzelnen Fibroblasten wahrgenommen, chemische Reaktionen in den Zellen ausgelöst und die chemischen Botenstoffe über die

Zell-Zell-Kanäle an benachbarte Zellen weitergeleitet werden (Salomon et al., 1988; Benjamin & Ralphs, 2000; Langevin et al., 2004; Langevin, 2006). Vergleichbar wäre dieses Prinzip mit dem bereits umfassender erforschten Kanalsystem der Knochen, in dem sich Osteozyten über ihre Zellausläufer ein Kommunikationssystem aufgebaut haben (Burger & Klein-Nulend, 1999; Grinnell, 2003; Bonewald & Johnson, 2008; Klein-Nulend et al., 2013).

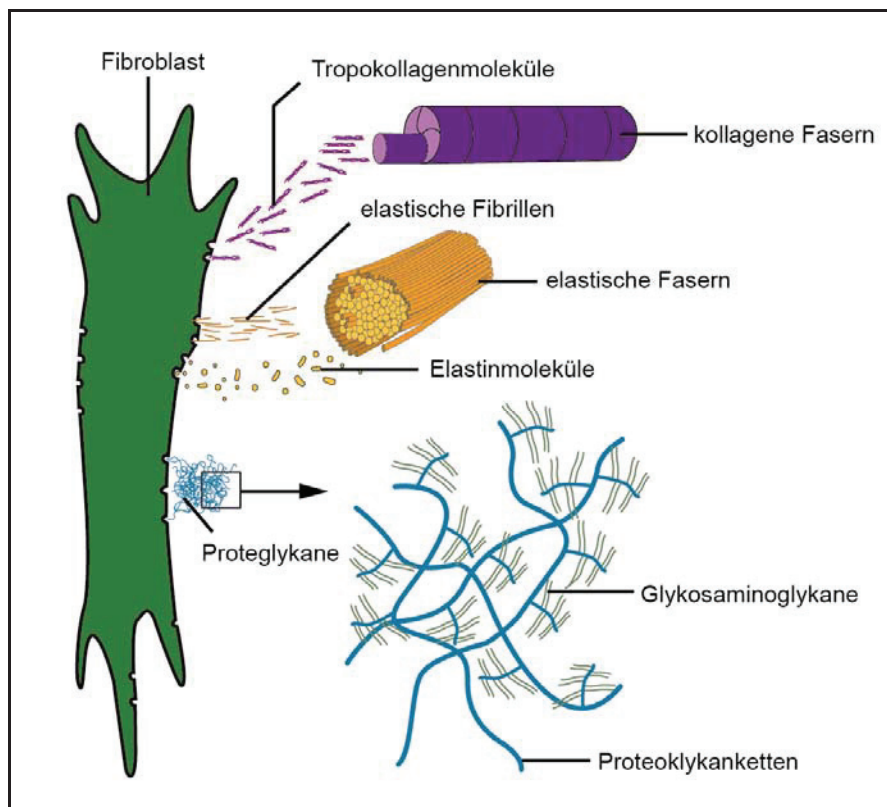


Abbildung 2: Fibroblasten steuern den Auf-, Um- und Abbau faseriger Bindegewebe. Synthetisiert werden die Hauptbestandteile der extrazellulären Matrix: Tropokollagen, Elastin und Proteoglykane. (Eigene Darstellung, in Anlehnung an van Berg & Cabri, 2003)

Um bei dem Vergleich der Reizwahrnehmung und -weiterleitung bei Knochengewebe zu bleiben, kommt hinzu, dass die Zellaktivität der Fibroblasten scheinbar nicht nur durch eine Reizqualität beeinflusst wird (Klein-Nulend et al., 2013). Lange Zeit wurde davon ausgegangen, dass einzig eine Deformation aufgrund einer Längenänderung des Fasergewebes der adäquate Reiz für die zwischen den Fasern liegenden Zellen sei. Immer mehr Erkenntnisse deuten jedoch den zusätzlichen Einfluss von Flüssigkeit an, welche die Fibroblasten umgibt. Aus den aktuellen Erkenntnissen geht hervor, dass der interstitielle Flüssigkeitsstrom in verschiedene Formen der mechanischen Stimulation auf die Zelle wirken kann (Dan et al., 2010). Hierzu zählen Scherkräfte sowie hydrostatischer und dynamischer Druck. Allen Reizformen ist gemeinsam, dass sie das Wachstum, die Migration, die Ausrichtung und die Synthesetätigkeit der Fibroblasten beeinflussen können (Rutkowski & Swartz, 2007; Kong & Vazquez, 2009;

Dan et al., 2010). Zusammengefasst führt eine mechanische Stimulation in Form einer gestaltverzerrenden Wirkung, ob durch einen Dehnungsreiz oder einer Flüssigkeitsströmung ausgelöst, zur Differenzierung, Ausrichtung und Aktivierung von Fibroblasten. In Reaktion auf die mechanische Stimulation schütten die Fibroblasten eine Vielzahl von extrazellulären Bestandteilen aus und bauen so ein an die Belastung angepasstes faseriges Bindegewebe auf (Aumailley & Gayraud, 1998). Zu den wichtigsten extrazellulären Bestandteilen gehören das Kollagen und die Proteoglykane.

2.1.3 Die extrazellulären Bestandteile

Kollagen als strukturbestimmendes Element

Kollagen bildet den Grundbaustein der zugresistenten Fasern des faserigen Bindegewebes (Fung, 1993; Snedeker & Gautieri, 2014; Stecco & Hammer, 2015). Wenngleich die zugübertragende Funktion nahezu allen 28 bisher beschriebenen Kollagentypen gemeinsam zu sein scheint, wird Kollagen Typ I als wichtigstes Strukturprotein zur Übertragung von Zuglasten genannt (Benjamin & Ralphs, 1997; Snedeker & Gautieri, 2014). Mit einem Anteil von etwa 90% ist dieser Typ die am häufigsten in unserem Körper vorhandene Kollagenart (Snedeker & Gautieri, 2014). Neben Typ I sind zudem die Kollagentypen II und III für die Struktur des faserigen Bindegewebes von Bedeutung. Kollagen Typ II bildet im Vergleich zu Typ I nur sehr feine Fasern aus und lässt sich hauptsächlich in knorpeligen Strukturen und in Sehnen an den Stellen, an denen diese durch einen Knochen in ihrer Zugrichtung umgelenkt werden, nachweisen (Benjamin & Ralphs, 1997). Als Beispiel sei hier das Lig. tibialis posterior in der retro-malleolaren Region genannt (Petersen et al., 2004). Kollagen Typ III bildet ein vorwiegend ungerichtetes Fasernetzwerk aus relativ dünnen Fasern aus (Lapiere et al., 1977; Benjamin & Ralphs, 1997). Gebildet wird es insbesondere bei der Entstehung von Narbengewebe (Benjamin & Ralphs, 1997; Wang et al., 2003; Wang, 2006) oder als Endo- oder Epitenon (Duance et al., 1977; Waggett et al., 1998).

Synthetisiert werden die Kollagene durch die Fibroblasten (Kjær et al., 2009). Wie bereits dargestellt, sind diese in der Lage Tropokollagen herzustellen und in den extrazellulären Raum abzusondern (Benjamin & Ralphs, 1997; van Berg & Cabri, 2003; Kummer, 2005). Tropokollagen bildet eine Vorstufe des Kollagens und besteht aus drei ineinander verflochtenen Polypeptidketten, der sogenannten Trippelhelix (Kummer, 2005; Snedeker & Gautieri, 2014). Unterschiede in den ineinander verflochtenen Polypeptidketten ergeben die unterschiedlichen Typen des Kollagens (Snedeker & Gautieri, 2014) (Abb. 3). Im extrazellulären Raum ordnen sich die supramolekularen Strukturen in den Zellzwischenräumen reihenweise an und bilden über intermolekulare Querbrückenverbindungen, sogenannten *crosslinks*, erste Fasern aus

(Kummer, 2005; Stecco et al., 2007a; Snedeker & Gautieri, 2014) (Abb. 3). Durch die Entstehung und Ausrichtung mehrerer Fasern kommt es zunehmend zur Ausprägung der übergeordneten Faserstruktur. Mit jeder höheren strukturellen Organisationsstufe, vom Tropokollagen über die einzelne Faser bis hin zum Faserbündel oder -geflecht, werden auch die mechanischen Eigenschaften immer wieder neu definiert (Fung, 1993). Die mechanischen Eigenschaften von Faserbündeln werden hauptsächlich durch die Anzahl und Ausrichtung der kollagenen Fasern bestimmt, aber auch durch das Verhältnis zu den restlichen extrazellulären Bestandteilen, wie Wasser oder Grundsubstanz (Hukins & Aspden, 1985; Waggett et al., 1998). Insbesondere durch den Anteil der Grundsubstanz werden die Eigenschaften faseriger Bindegewebe maßgeblich beeinflusst.

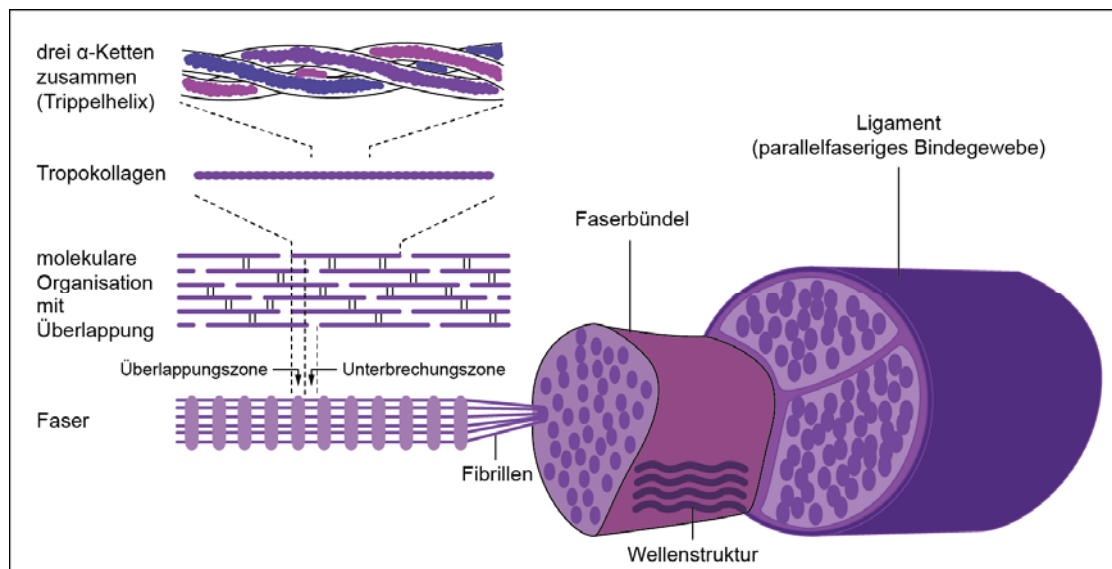


Abbildung 3: Der strukturelle Aufbau der kollagenen Bestandteile bestimmt maßgeblich die späteren mechanischen Eigenschaften des faserigen Bindegewebes. (Eigene Darstellung, in Anlehnung an van Berg & Cabri, 2003)

Die Grundsubstanz – Schmierstoff und Kleber des faserigen Bindegewebes

Die Grundsubstanz bestimmt die Mobilität und den Zusammenhalt des faserigen Bindegewebes (Fung, 1993; Stecco & Hammer, 2015). Hauptsächlich daran beteiligt sind die Proteoglykane, welche als langkettige Makromoleküle von den Fibroblasten synthetisiert werden. An den Seitenketten der Hauptproteine befinden sich Glycosaminoglykane in Form langer, linearer Kohlenhydratgruppen (Stecco & Hammer, 2015). Dazu zählen Keratansulfat, Heparin oder Hyaluronsäure (van Berg & Cabri, 2003). Allen gemeinsam ist, dass sie stark negativ geladen sind (Stecco & Hammer, 2015). So sind die Proteoglykane mit Hilfe der Glycosaminoglykane in der Lage große Mengen Wasser anzuziehen und ein hydrathaltiges Gel zu formen. Dies erlaubt es den einzelnen Kollagenfasern sich gegeneinander zu verschieben und verleiht dem

faserigen Bindegewebe seine viskoelastischen Eigenschaften (Fung, 1993). Gleichzeitig wird durch das Binden von Wasser das faserige Bindegewebe als Struktur stabilisiert (Fung, 1993; van Berg & Cabri, 2003; Stecco & Hammer, 2015). Der direkte Einfluss auf die mechanischen Eigenschaften ist jedoch nur unzureichend untersucht (Cowin & Doty, 2007).

Resümierend kann davon ausgegangen werden, dass das faserige Bindegewebe in seiner Entstehung und Anpassung als ein interaktives, lebendes System verstanden werden kann, welches in der Lage ist, sich an die von außen einwirkenden Umweltreize anzupassen (Benjamin & Ralphs, 2000). Grundlage ist hierbei die Differenzierung von Fibroblasten und die Synthese einer an die Umweltreize angepassten extrazellulären Matrix. Auf dieser Grundlage entsteht eine Vielzahl verschiedener Arten faseriger Bindegewebe, welche trotz sehr ähnlicher Grundbausteine sehr verschiedene Eigenschaften ausprägen können. Im Folgenden werden zunächst die verschiedenen Arten faseriger Bindegewebe betrachtet, bevor daraus spezifische Eigenschaften abgeleitet werden.

2.2 Arten faseriger Bindegewebe

Die Beschreibung der unterschiedlichen Arten faseriger Bindegewebe bezieht sich hauptsächlich auf die von Stecco & Hammer (2015) getroffene Unterteilung. Davon abweichende Textstellen wurden als solche kenntlich gemacht. Allgemein wird bei Stecco & Hammer das Bindegewebe in drei Gruppen unterteilt:

- das spezialisierte Bindegewebe (*specialized connective tissue*)
- das embryonale Bindegewebe (*embryonic connective tissue*) und
- das faserige Bindegewebe (*proper connective tissue*).

Zu den spezialisierten Bindegeweben wird das Fett-, Knochen- und Knorpelgewebe gezählt. Das embryonale Bindegewebe umfasst das Mesenchym sowie das muzinöse (schleimartige) Bindegewebe. Das faserige Bindegewebe wird durch das lockere und straffe Bindegewebe gebildet (Abb. 4). Dabei lassen sich die beiden Bindegewebsarten zum Teil nur schwer anatomisch voneinander trennen. Häufig verlaufen die Übergänge fließend und bilden so ein körperumspannendes Netzwerk aus faserigem Bindegewebe (Stecco & Hammer, 2015). Dennoch wird versucht, die einzelnen Gewebearten klar voneinander zu trennen und streng der Nomenklatur folgend einzuordnen (Schleip et al., 2012; Stecco & Schleip, 2015; van der Wal, 2015). Da die eigenen Untersuchungen ausschließlich das straffe Bindegewebe zum Gegenstand hatten, wird diese Art des faserigen Bindegewebes nachfolgend genauer ausgeführt.

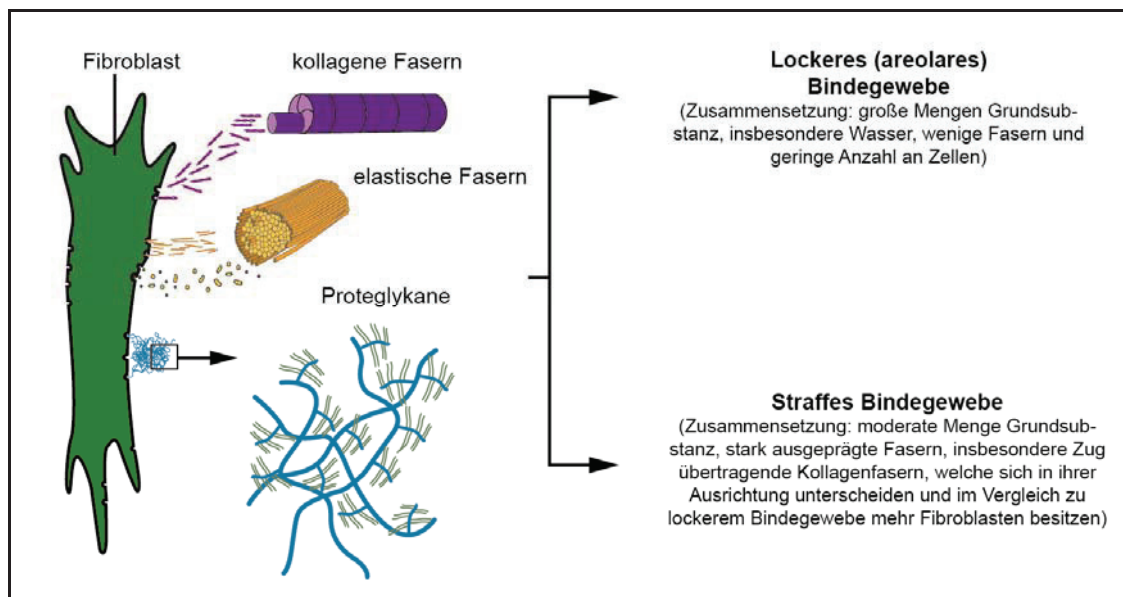


Abbildung 4: Einteilung faseriger Bindegewebe in lockeres und straffes Bindegewebe. Trotz ihrer Verschiedenartigkeit bestehen alle faserigen Bindegewebe aus den gleichen Grundbausteinen, welche von den Fibroblasten synthetisiert werden. (Eigene Darstellung)

Straffes Bindegewebe besteht hauptsächlich aus Kollagen Typ I-Fasern und variierenden Anteilen elastischer Fasern (Benjamin & Ralphs, 1997; Kannus, 2000; Stecco & Hammer, 2015). Die zugfesten Fasern richten sich entlang der Hauptzugbelastungsrichtung aus und verleihen dem Gewebe so seine widerstandsfähige und kraftübertragende Funktion. Zwischen den Fasern lagern sich reihenartig die Fibroblasten an und steuern von hier den Auf-, Um- und Abbau der extrazellulären Matrix. Abhängig von der Art und Richtung der einwirkenden Kräfte differenzieren sich verschiedene Formen des straffen Bindegewebes (Abb. 5):

- das straffe ungerichtete Bindegewebe und
- das straffe gerichtete Bindegewebe.

Anders als das straffe ungerichtete Bindegewebe folgt das straffe gerichtete Bindegewebe einem strukturierten und kraftflussentsprechenden Aufbau. Die dicht gepackten Kollagenfaserbündel können entweder parallel angeordnet sein und damit nur einer einzigen Hauptkraftrichtung folgen oder einen mehrlagigen Strukturaufbau verschiedener Faserorientierungen aufweisen (Abb. 5). Jede Faserlage folgt hier einem auf das spezifische Gewebe einwirkenden Kraftvektor (Vleeming et al., 1995; Benetazzo et al., 2011).

Wie bereits angedeutet, lassen sich aus der entstandenen strukturellen Vielfalt faseriger Bindegewebe ebenso vielfältige Funktionen und Eigenschaften ableiten. Im folgenden Kapitel sollen die dem faserigen Bindegewebe zugesprochenen Funktionen kurz vorgestellt werden. Insbesondere wird vertieft auf die mechanischen Eigenschaften sowie die Rolle der faserigen Bindegewebe für die sensomotorische Kontrolle eingegangen.

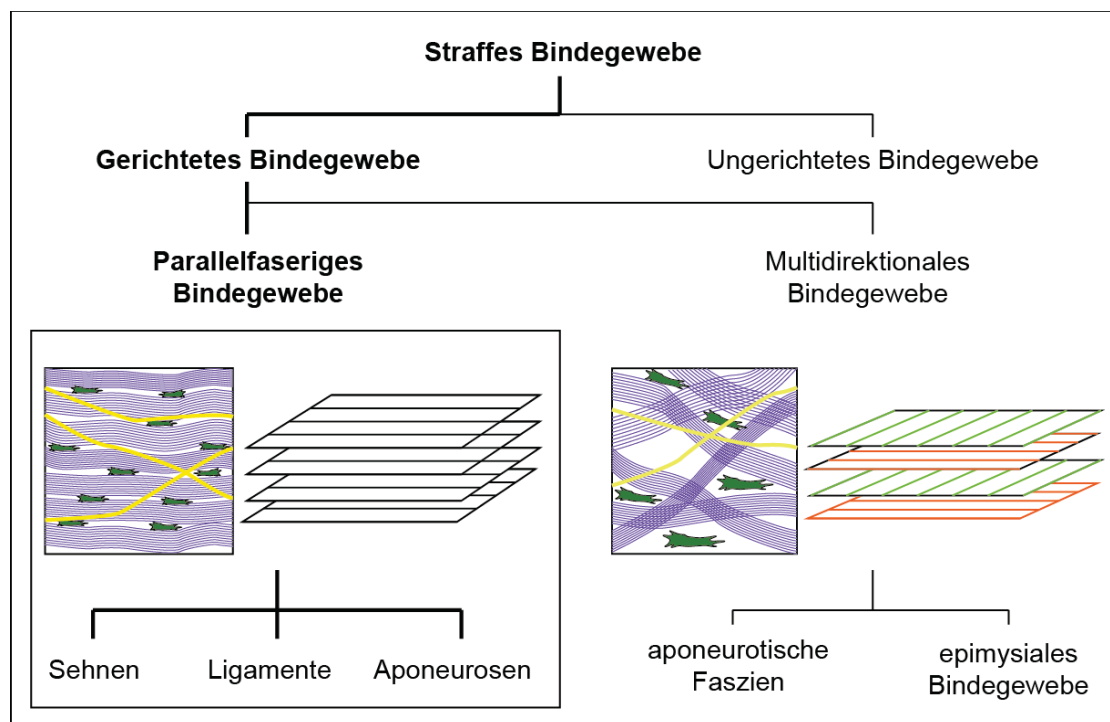


Abbildung 5: Das straffe Bindegewebe lässt sich in gerichtetes und ungerichtetes Bindegewebe unterteilen. Es folgt eine weitere Unterteilung des gerichteten Bindegewebes in parallelfaseriges und multidirektionales Bindegewebe. Die in dieser Arbeit folgenden eigenen Untersuchungen beziehen sich nahezu ausnahmslos auf straffes, gerichtetes, parallelfaseriges Bindegewebe. (Eigene Darstellung)

2.3 Funktion und Eigenschaften faseriger Bindegewebe

2.3.1 Funktionen faseriger Bindegewebe im Überblick

Nach Stecco & Hammer (2015) sowie van Berg & Capri (2003) lassen sich die folgenden Funktionen faseriger Bindegewebe zusammenfassen:

- *stützende Funktion:* dient als Gerüst und Strukturgeber für den Körper,
- *verbindende Funktion:* verbindet sämtliche Körpergewebe, insbesondere durch straffe gerichtete Bindegewebe,
- *schützende Funktion:* umhüllt Organe oder separiert umgebende Organe, füllt Zwischenräume auf und schützt so vor Friktion, Druck oder Zusammenstößen,
- *Transport- und Ernährungsfunktion:* beinhaltet Transportwege für Nährstoffe und Abfallprodukte,
- *speichernde Funktion:* speichert Energie in Form elastischer Energie durch straffe Bindegewebe oder kalorische Energie durch Fettgewebe,
- *formende Funktion:* unterstützt die Bildung von Narbengewebe im Rahmen des Heilungsprozesses von Geweben nach traumatischer Schädigung,

- *Informationsfunktion*: ermöglicht den körperumspannenden Signalaustausch durch Zell-Zell-Kanäle sowie die Beteiligung an der Körperwahrnehmung durch sensorische Innervation.

Nachfolgend werden die verbindende Funktion sowie die Informationsfunktion straffer gerichteter Bindegewebe näher betrachtet. Aus diesen Funktionen lassen sich mechanische Eigenschaften und der Beitrag faseriger Bindegewebe für die sensomotorische Funktion ableiten.

2.3.2 Mechanische Eigenschaften straffer Bindegewebe

Zu den am meisten beschriebenen mechanischen Eigenschaften faseriger Bindegewebe zählen nach Fung (1993) das nichtlineare Spannungs-Dehnungsverhalten, das Hystereseverhalten bei zyklischen Belastungen, die Spannungsrelaxation bei konstanter Dehnung sowie die Veränderungen in der strukturellen Ausrichtung der Gewebe während der ersten Belastungszyklen (*preconditioning*). Die Beschreibungen stammen überwiegend von Untersuchungen an straffen gerichteten parallelfaserigen Bindegeweben. Der Vorteil dieser Gewebestruktur liegt darin, dass in Zugversuchen die Bindegewebe entlang ihrer Faserorientierung getestet werden können (Cowin & Doty, 2007). Durch die standardisierte Faserorientierung lassen sich zuverlässige Aussagen zum Einfluss zellulärer und extrazellulärer Bestandteile auf die mechanischen Eigenschaften faseriger Bindegewebe treffen (ebd.). Zum Beispiel lässt sich das nichtlineare Spannungs-Dehnungsverhalten während eines Zugversuches hauptsächlich auf das Materialverhalten der parallel angeordneten Kollagenfasern zurückführen. Der Verlauf der Kurve bildet das Verhältnis der Dehnung eines faserigen Bindegewebes in Relation zur eingeleiteten Kraft ab und kann in drei charakteristische Bereiche eingeteilt werden (Abb. 6). Die Bereiche werden von Fung (1993) und Cowin & Doty (2007) übereinstimmend beschrieben:

- I. *Anfangsbereich*: Zu Beginn des oft als „toe region“ bezeichneten Anfangsbereichs ist wenig Kraft erforderlich, um das Gewebe auseinanderzuziehen. Dieses Kraft-Dehnungs-Verhältnis wird hauptsächlich auf die wellenartige Struktur, welche die parallel verlaufenden Kollagenfasern im unbelasteten Zustand aufzeigen, zurückgeführt. Als Ursache für die Wellenbildung wird eine Gestaltverzerrung der Grundsubstanz, insbesondere der Hyaluronsäurebestandteile, vermutet (Fung, 1993; Franchi et al., 2007). Mit zunehmender Kraft werden die Fasern allmählich gestreckt und die Wellenstruktur nimmt zunehmend ab.
- II. *Linearer Bereich*: Der lineare Bereich der Kurve ist durch ein nahezu lineares Verhalten zwischen Spannung und Dehnung gekennzeichnet. Dieser Bereich wird von den nun vollständig gespannten Kollagenfasern dominiert. Aus diesem Grund werden auch aus

diesem Bereich der Kurve häufig die linear-elastischen Eigenschaften, meist in Form des Elastizitätsmoduls (engl. *Young's modulus*) bestimmt. Das Ende des linearen Belastungsbereichs wird durch erste Unregelmäßigkeiten im Kurvenverlauf ersichtlich. Die zackenartigen Erscheinungen sind auf erste einzelne Faserrupturen und eine daran geknüpfte Reorganisation der noch intakten Faserstruktur zurückzuführen.

- III. **Versagensbereich:** Der Versagensbereich ist als dritter und damit letzter Bereich der Spannungs-Dehnungskurve durch ein nichtlineares Verhalten gekennzeichnet. Dieses ist durch ein immer stärker zunehmendes stochastisches Faserversagen mit abschließender vollständiger Ruptur der faserigen Bindegewebsstruktur zu begründen.

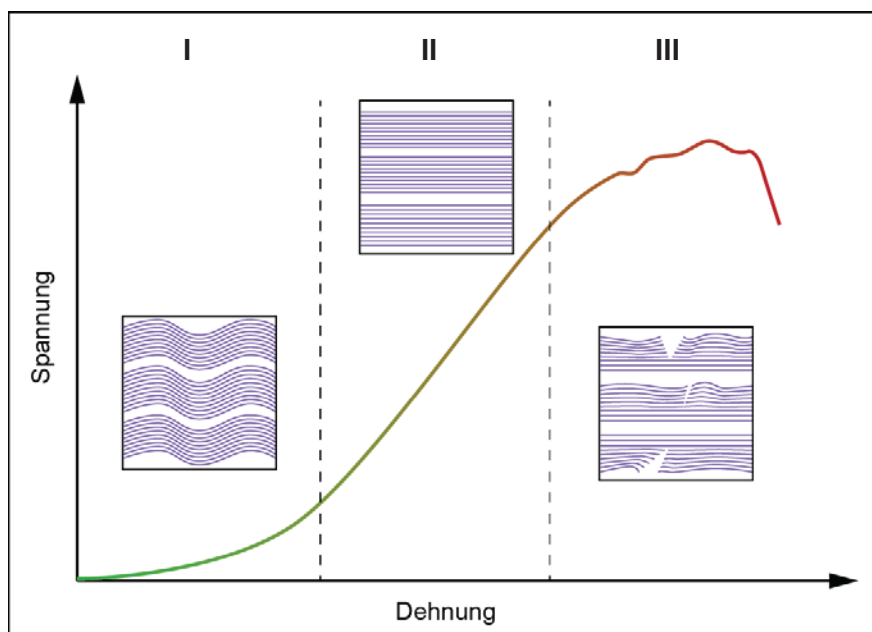


Abbildung 6: Während eines einachsigen Zugversuches zeigen straffe gerichtete parallelfaserige Bindegewebe ein typisches Materialverhalten. Im Spannungs-Dehnungs-Verlauf folgen chronologisch der Anfangsbereich, der lineare Bereich und der Versagensbereich, hier abgegrenzt durch die gestrichelten Linien. Die typische Kurvencharakteristik lässt sich auf interne Strukturveränderungen zurückführen. (Eigene Darstellung)

Der Anfangsbereich wird häufig auch als physiologischer Bereich bezeichnet, in dem das faserige Bindegewebe alltäglich belastet wird (Fung, 1993). Der zweite und dritte Bereich werden dagegen als Reservebereich betrachtet (ebd.). Häufig liegt die Belastungsgrenze straffer gerichteter parallelfaseriger Bindegewebe im Bereich von 10-15% Dehnung (Fung, 1993), wobei dieser Wert, wie in den vorangegangenen Kapiteln dargestellt wurde, stark von den extrazellulären Bestandteilen sowie der vorausgegangenen alltäglichen Belastung auf das Bindegewebe abhängig ist. Interessant ist in diesem Zusammenhang, dass die faserigen Bindegewebe scheinbar selbst dazu in der Lage sind, ihren aktuellen Spannungs-Dehnungs-Zustand

wahrzunehmen, an eine neuronale Kontrolleinheit weiterzuleiten und darüber ein muskuläres Antwortmuster auszulösen. Aus diesem Grund und aufgrund dass eine rein mechanische Betrachtung faseriger Bindegewebe nicht ausreichend scheint (Vleeming et al., 2007), sollen die bisherigen Erkenntnisse über die Bedeutung sensorischer Eigenschaften faseriger Bindegewebe für die sensomotorische Kontrolle des Bewegungsapparates ebenfalls kurz zusammengefasst werden.

2.3.3 Faserige Bindegewebe als Bestandteil sensomotorischer Kontrolle

Grundlagen der sensomotorischen Kontrolle

Jede körperliche Bewegung, bewusst oder unbewusst, benötigt eine Vielzahl sensorischer Informationen, um den Körper aufrechtzuhalten und eine kontrollierte Bewegungssteuerung zu ermöglichen (Dickinson et al., 2000; Vleeming et al., 2007). Das muskuläre, die Bewegung ausführende System ist in diesem Zusammenhang eng an das sensorische, die Bewegung kontrollierende System gekoppelt. Genauer beschreiben Dickinson et al. (2000) drei sensorische Systeme, welche zur Bewegungskontrolle beitragen:

- das optische und akustische System (Wahrnehmung der absoluten Geschwindigkeit und Richtung einer Bewegung)
- das vestibuläre System (Gleichgewichtsorgan zur Wahrnehmung linearer Beschleunigungen und Winkelbeschleunigungen)
- das mechanosensorische System (Wahrnehmung von intern und extern auf den Körper einwirkender physischer und chemischer Reize).

Insbesondere das letztgenannte mechanosensorische System leistet einen wichtigen Beitrag, den Ort, die Lage, die Ausrichtung und die Bewegung des Körpers und seiner Teile wahrzunehmen. Die auch als Propriozeption bezeichnete Fähigkeit der Körperwahrnehmung ermöglicht sowohl das Auslösen unwillkürlicher Muskelreflexe, als auch die Ausführung kontrollierter und den äußeren Belastungen angepasster Bewegungen (Solomonow & Krogsgaard, 2001; Vleeming et al., 2007). Zusammen mit den afferenten Neuronen bilden die Mechanorezeptoren hierfür die morphologische Grundlage (van der Wal, 2012). Mechanorezeptoren befinden sich in verschiedenen Körperorganen wie der Haut und der Muskulatur. Auch in faserigem Bindegewebe konnte bereits eine Vielzahl an Mechanorezeptoren nachgewiesen werden (Stilwell, 1957; Schleip, 2003; Stecco et al., 2007b; Benjamin, 2009). Bekannt als Golgi-Organ, Vater-Pacini-Körperchen, Meissnersche Tastkörperchen, Ruffini-Körperchen, Muskelspindel oder freie Nervenendigung versorgen sie den Thalamus und sensomotorischen Kortex mit

kinästhetischen Informationen zur Stellung der Gelenke und Kinematik der Körperteile (Solomonow & Krogsgaard, 2001). Selbst kleinste Bewegungen, welche in den Geweben zu Längenänderungen im Mikrometerbereich führen, können möglicherweise von einzelnen Mechanorezeptoren als Dehnungs- oder Druckreiz wahrgenommen und an das sensorische Zentrum weitergeleitet werden (Vleeming et al., 2007). Gemeinsam mit den folgenden Ausführungen ist diese Annahme für das Verständnis der später vorgestellten Untersuchung zur Wirkungsweise eines Beckenkompressionsgurtes entscheidend.

Die Bedeutung faseriger Bindegewebe für die sensomotorische Kontrolle

Lange Zeit wurden die faserigen Bindegewebe einzig hinsichtlich ihrer mechanischen Eigenschaften und Funktionen diskutiert (Schleip, 2012). Dabei scheint die sensorische Innervation faseriger Bindegewebe von entscheidender Bedeutung für eine erweiterte biomechanische Betrachtung zu sein (Solomonow & Krogsgaard, 2001). Faserige Bindegewebe, insbesondere straffe, wären demnach nicht nur in der Lage einwirkende Zugkräfte aufzunehmen und diesen mechanisch zu widerstehen. Sie könnten die Belastungsreize auch quantifiziert wahrnehmen, an den sensomotorischen Kortex weiterleiten und dadurch ein willkürliches oder unwillkürliches muskuläres Antwortmuster erzeugen. Schon im Jahr 1900 stellte Payr am Beispiel des Kniegelenks die Hypothese eines muskuloligamentären Schutzreflexes auf (Payr, 1900). Nachdem diese Hypothese jahrelang nur theoretisch erweitert werden konnte (Partridge, 1924; Palmer, 1938), gelang Palmer et al. (1958) der experimentelle Nachweis. Die Arbeitsgruppe konnte zeigen, dass die Stimulation von Mechanorezeptoren im vorderen Kreuzband zur Auslösung von Muskelreflexen führte. Die Erkenntnis einer Beteiligung faseriger Bindegewebe an der motorischen Kontrolle konnte anschließend für die ligamentären Strukturen des Knies mehrfach bestätigt werden (Skoglund, 1956; Stener & Petersen, 1962; Solomonow et al., 1987; Raunest et al., 1996). Gleichzeitig konnte für die Mechanorezeptoren des vorderen Kreuzbandes gezeigt werden, dass das Ausmaß der weitergeleiteten sensorischen Informationen vom Spannungszustand des Ligaments abhängig ist (Markolf et al., 1976; Krauspe et al., 1992).

Der anatomische Nachweis vergleichbarer ligamentärer Innervationsstrukturen in Bereichen der Schulter (Solomonow et al., 1996), des Ellenbogens (Petrie et al., 1998), der Handgelenke (Petrie et al., 1997), der Wirbelsäule (Jackson et al., 1966; Yahia & Newman, 1991; Yahia et al., 1988), der unteren Gliedmaßen (Stecco et al., 2007b) und des Fußes (Stecco et al., 2013; Stecco et al., 2010) sowie der experimentelle Nachweis am Beispiel der Bandscheibe und der paraspinalen Muskulatur (Indahl et al., 1995) lassen die Vermutung zu, dass sich die am Knie erlangten Erkenntnisse einer neuronalen Interaktion zwischen faserigem Bindegewebe und

umgebender Muskulatur für den Bewegungsapparat verallgemeinern lassen. Gleichzeitig können die gefundenen Resultate dafür genutzt werden, die Entstehung akuter oder chronischer Schmerzzustände zu erklären.

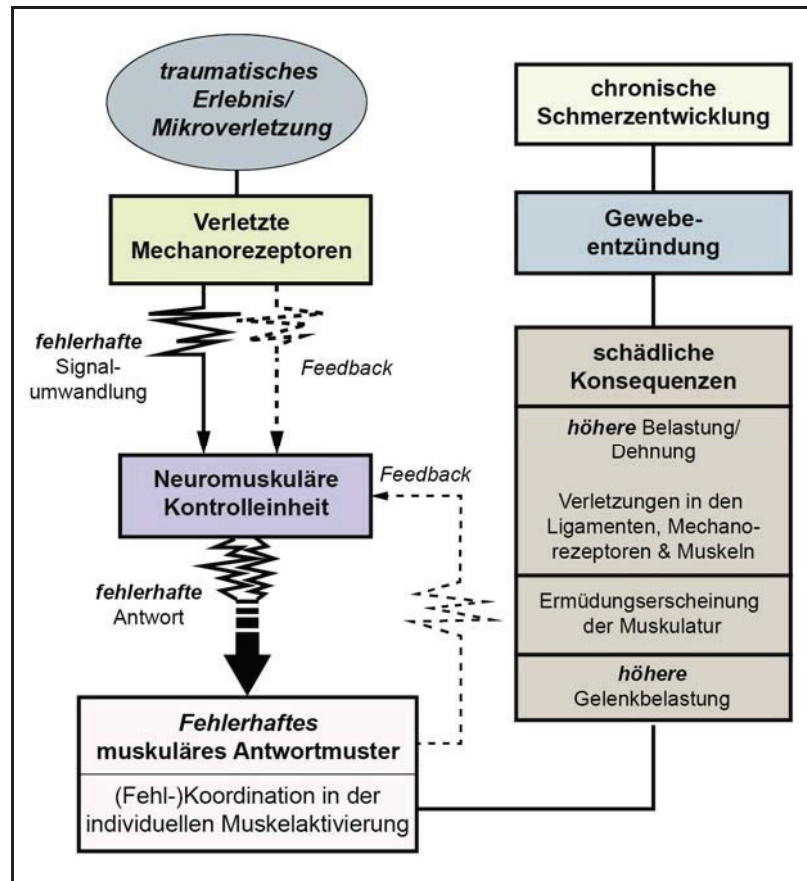


Abbildung 6: Das Hypothesenmodell zur Entstehung chronischer Schmerzzustände nach Panjabi (2006). Grundlage des Modells ist die Einbeziehung eines aktiven Subsystems (Muskulatur), eines kontrollierenden Subsystems (Mechanorezeptoren und motorisches Zentrum) und eines passiven Subsystems (faserige Bindegewebe und Knochengewebe). Es unterstreicht die Bedeutung faseriger Bindegewebe für die sensomotorische Kontrolle. (Eigene Darstellung, in Anlehnung an Panjabi, 2006)

Für die Wirbelsäule stellte Panjabi (1992, 2006) ein umfassendes Hypothesenmodell auf, welches ein enges Zusammenspiel ligamentärer (passiver), muskulärer (aktiver) und kontrollierender (neuronaler) Subsysteme als Voraussetzung eines stabilen Bewegungssystems beschreibt. Es wird hierin davon ausgegangen, dass durch ein traumatisches Erlebnis oder dauerhafte Überlastung in den faserigen Bindegewebe strukturelle Veränderungen stattfinden (Solomonow et al., 2012), was zu einer verfälschten neuronalen Reizweiterleitung und einer daraus resultierenden veränderten Muskelaktivierung führen kann (Abb. 6). Eine anhaltend veränderte Muskelaktivierung kann demnach eine dauerhafte muskuläre Ermüdung, Fehlstellung und veränderte Motorik zur Folge haben. Chronische Schmerzzustände können hiervon die Folge sein (Panjabi, 2006; Vleeming et al., 2007). Die Grundzüge dieses Hypothesenmodells wurden zuletzt auf die muskuloligamentären Strukturen des Fußes in Hinblick auf hier

auftretende chronische Schmerzzustände übertragen (McKeon et al., 2015). Die Berücksichtigung der sensomotorischen Kontrolle scheint für eine umfassende biomechanische Betrachtung faseriger Bindegewebe damit unerlässlich. Nachvollziehbar wird dieser Schluss auch in Anbetracht der eigenen Untersuchung zur Wirkungsweise eines Beckenkompressionsgurts, welche im kommenden Kapitel vorgestellt wird. Beginnen wird dieses Kapitel jedoch mit der Untersuchung zum Einfluss der zellulären Bestandteile auf die mechanischen Eigenschaften des Tractus iliotibialis. Bei den folgenden Beschreibungen handelt es sich jeweils um eine zusammenfassende Gesamtschau der eigenen Untersuchungen von faserigen Bindegeweben. Die dazugehörigen Publikationen befinden sich im Anhang dieser Arbeit.

3 Eigene Beiträge zur biomechanischen Untersuchung faseriger Bindegewebe

3.1 Do Cells Contribute to Tendon and Ligament Biomechanics?

Autoren: Niels Hammer, Daniel Huster, Sebastian Fritsch, Carsten Hädrich, Holger Koch, Peter Schmidt, Freddy Sichtung, Martin Franz-Xaver Wagner und Andreas Boldt

Erschienen in: *PloS one* (2014), Vol. 9 (8)

Die mechanische Zugprüfung gehört zu den Standardverfahren der biomechanischen Untersuchung faseriger Bindegewebe. Aus den meist einachsigen Zugversuchen lassen sich elementare Materialparameter zur Charakterisierung des mechanischen Verhaltens unter Zuglast ermitteln. Hierzu gehören das Spannungs-Dehnungs-Verhalten, das daraus abgeleitete Elastizitätsmodul sowie die Streckgrenze. Die Parameter dienen als Grundlage für allgemeine Beschreibungen spezifischer Gewebe, computerbasierte Simulationen oder vergleichende Studien. Zu letzterem gehört auch der Vergleich zwischen nativen und azellulären Gewebeproben. Azelluläre, von sämtlichen zellulären Bestandteilen befreite Gewebe, eignen sich als Ersatz oder Unterstützung verletzter straffer Bindegewebe. Ihr Potential bei operativen Eingriffen an Ligamenten und Sehnen gewinnt zunehmend an Bedeutung (Herbert et al., 2015). Jedoch existieren bisher nur unzureichende Erkenntnisse über den Einfluss zellulärer Bestandteile auf die mechanischen Eigenschaften straffer Bindegewebe. Das Ziel war es daher, die Wirkung einer Dezellularisierung auf die mechanischen Eigenschaften zu untersuchen. Hierfür wurden insgesamt 18 Proben des Tractus iliotibialis von 9 Körperspendern in vitro getestet. Der Tractus iliotibialis eignet sich aufgrund seiner parallelfaserigen und breitflächigen Erscheinung besonders gut für eine standardisierte und repräsentative Zugprüfung straffer Bindegewebe. Es wurden 9 Probenpaare getestet: jeweils eine native und eine dezellularisierte Probe, deren zelluläre Bestandteile mit Hilfe eines standardisierten Verfahrens entfernt wurden (Koch et al., 2012). Um zusätzliche Einflussgrößen auf die Ergebnisse des Vergleichs zu minimieren, wurde der Wassergehalt aller Proben auf 69% angepasst und die Enden der Proben zur Reduzierung des Materialschlupfs während der Zugprüfung plastiniert (Steinke et al., 2012; Hammer et al., 2012; Sichtung et al., 2015). Zusätzlich wurde die Wirksamkeit der Dezellularisierung mit Hilfe von Messungen des DNA-Gehalts überprüft.

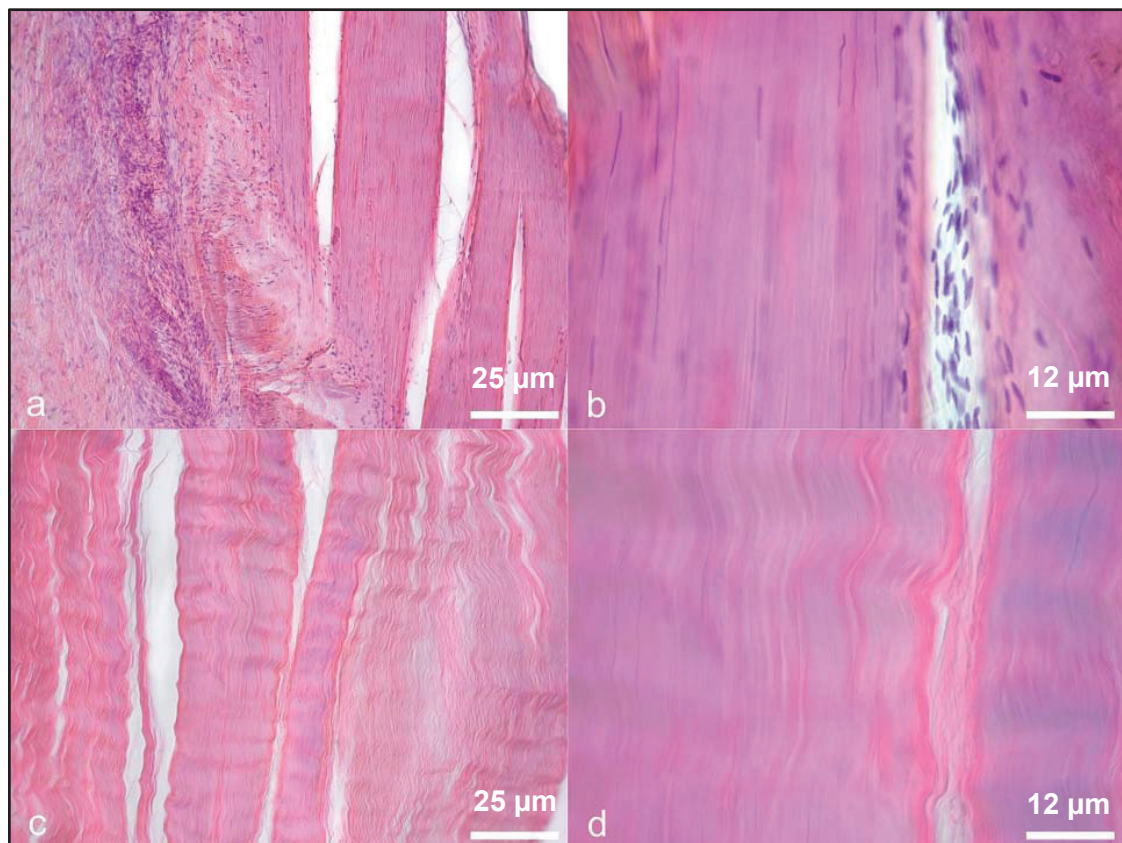


Abbildung 7: Mikroskopische Betrachtung des Tractus iliotibialis mit blau eingefärbten Zellbestandteilen in den nativen Gewebeproben (a + b). Nach dem Prozess der Dezellularisierung sind keine zellulären Bestandteile sichtbar (c + d). (Darstellung aus Hammer et al., 2014)

Der Vergleich des Elastizitätsmoduls und des maximalen Spannungswertes zum Zeitpunkt des Materialversagens ergab keine nennenswerten Unterschiede. Einzig die maximalen Dehnungswerte stiegen bei den azellulären Proben signifikant an (Abb. 8). Zudem konnten in den azellulären Proben histologisch keine verbleibenden zellulären Bestandteile nachgewiesen werden (Abb. 7), jedoch geringe DNA-Anteile. Bei einer Transplantation könnte die unvollständige Entfernung der DNA-Bestandteile potentiell zu einer Abstoßungsreaktion des zellfreien Gewebes führen. An dieser Stelle sind weitere Untersuchungen zur Verbesserung des bestehenden Verfahrens notwendig. Aus den Ergebnissen der mechanischen Testung kann geschlossen werden, dass insbesondere im physiologischen Belastungsbereich die zellulären Bestandteile das Spannungs-Dehnungs-Verhalten straffer Bindegewebe scheinbar nicht beeinflussen. Die erhöhte Dehnfähigkeit der zellfreien Proben im Versagensbereich könnte auf strukturelle Veränderungen hinweisen, welche bei Elongationen nahe der Versagensgrenze zum Tragen kommen. Möglicherweise verhindert im nativen Zustand die Adhäsion zwischen Fasern und Zellen eine vollständige Streckung der kollagenen Fasern.

Um diesen potentiellen Mechanismus zukünftig klären zu können, ist es notwendig, mögliche Messfehler, welche ebenso zu diesem Ergebnis geführt haben können, auszuschließen. Ein möglicher Messfehler könnte Materialschlupf sein. Durch das Rutschen der Proben aus den Spannvorrichtungen der Zugprüfmaschine können zufällig auch scheinbar höhere Dehnungswerte entstehen. Aus diesem Grund wurde der Einfluss des Materialschlupfs auf die Ergebnisse der mechanischen Eigenschaften am Beispiel des Tractus iliotibialis überprüft. Die Resultate dazu werden im nächsten Kapitel vorgestellt.

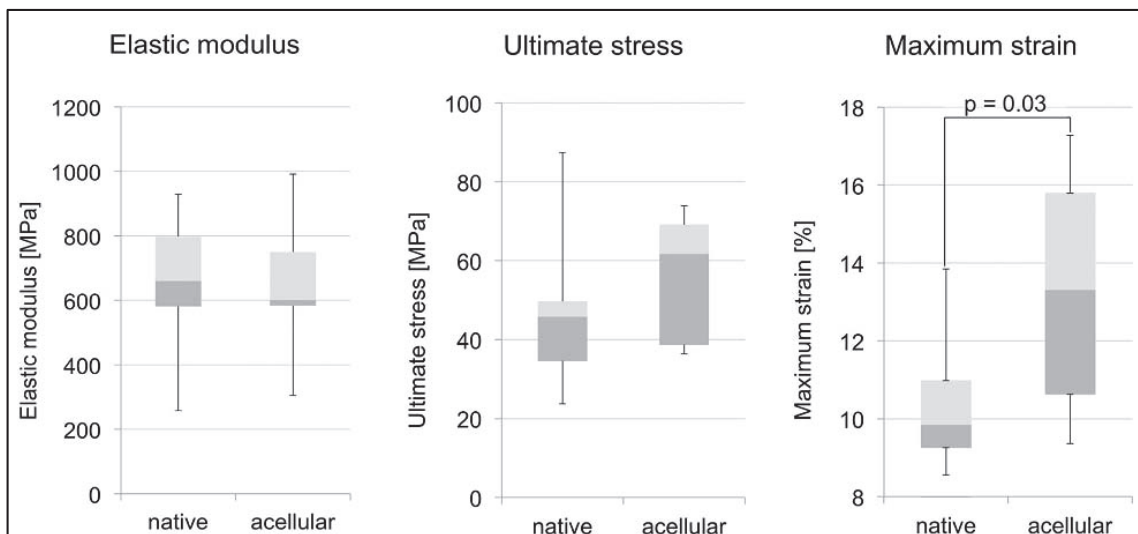


Abbildung 8: Einfluss der Dezellularisierung auf die mechanischen Eigenschaften des Tractus iliotibialis. Während sich beim Elastizitätsmodul und der Streckgrenze keine Unterschiede zeigen, steigt die Dehn-
grenze in zellbefreiten Gewebeproben signifikant an. (Darstellung aus Hammer et al., 2014)

3.2 Quantification of material slippage in the iliotibial tract when applying the partial plastination clamping technique

Autoren: Freddy Sichting, Hanno Steinke, Martin F.-X. Wagner, Sebastian Fritsch, Carsten Hädrich und Niels Hammer

Erschienen in: *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* (2015), Vol. 49

Dass Materialschlupf die Spannungs-Dehnungs-Daten verfälscht, liegt darin begründet, dass die Dehnungswerte in Zugprüfungen nahezu ausnahmslos über die Änderung des Traversenweges der Prüfmaschine berechnet werden. Kommt es während der Zugprüfung zu einem Rutschen der Probe in der Spannvorrichtung, dem sogenannten Materialschlupf, wird eine Änderung des Traversenweges aufgezeichnet, ohne dass die Probe gedehnt wird. Dieser Messfehler ermöglicht das zufällige Auftreten von Unterschieden im Dehnungsverhalten einer Gewebeprobe. Um den Einfluss dieses Messfehlers zu reduzieren, wurde die Methode der partiellen Plastination entwickelt (Steinke et al., 2012; Hammer et al., 2012). In dem zugrundeliegenden Verfahren werden die Enden der Gewebeproben mit Hilfe von Epoxidharz und Kunststoffplatten plastiniert (Abb.9). Durch dieses Vorgehen kann die Zuglast über die Spannvorrichtungen direkt auf die Gewebeprobe übertragen und das Risiko des Rutschens minimiert werden. Das Vermögen, den Materialschlupf zu minimieren wurde jedoch bis dahin nicht quantifiziert. Das Ziel war es daher, das Potential der partiellen Plastinationsmethode und der Einfluss des verbleibenden Messfehlers auf die mechanischen Eigenschaften des zu testenden Gewebes zu untersuchen. Insgesamt wurden hierfür 12 Proben des Tractus iliotibialis partiell plastiniert und anschließend in einem einachsigen Zugversuch bis zum Materialversagen getestet. Zum Vergleich blieben 10 Proben unplastiniert. Diese wurden zwischen spezielle Gummiklemmbanken eingespannt und anschließend ebenfalls bis zum Materialversagen getestet. Die Dehnung aller Proben wurde über den Traversenweg der Prüfmaschine und ein optisches Messsystem erfasst. Das optische Messsystem basiert auf dem Prinzip der Grauwertkorrelation und ermöglicht die berührungslose Messung der Dehnung. Ein Vergleich der optisch erfassten Dehnungsdaten mit denen des Traversenweges ermöglichte es, den Materialschlupf zu evaluieren. Es konnte gezeigt werden, dass trotz partieller Plastination Materialschlupf vorhanden war. Im Vergleich zu nicht plastinierten Proben ist dieser jedoch stark reduziert. Nahe der Versagensgrenze lag der maximal zu erwartende Messfehler bei 18%. Bei einem Vergleich von Proben straffer Bindegewebe, wie die des Tractus iliotibialis, müsste der tatsächliche Unterschied mindestens größer sein als der möglicherweise zufällig verursachte Messfehler. In

der bereits vorgestellten Untersuchung zum Einfluss zellulärer Bestandteile auf die mechanischen Eigenschaften straffer Bindegewebe lag der gemessene Unterschied bei den Dehnungswerten zum Zeitpunkt des Versagens bei 30% (native Probe $10\pm 2\%$; zellfreie Probe $13\pm 3\%$) (Hammer et al., 2014). Die Gegenüberstellung der beiden Studienergebnisse unterstreicht die geäußerte Vermutung, dass der Unterschied im Dehnungsverhalten nach Dezellularisierung strukturbedingt ist und nicht nur durch Materialschlupf verursacht wird.



Abbildung 9: Verfahrensschritte der partiellen Plastinationsmethode. Von links oben nach rechts unten: Am Beispiel eines freipräparierten Tractus iliobtibialis werden aus dem parallelfaserigen Bereich entlang des Faserverlaufs zwei bis drei Zugprobekörpern herausgeschnitten. Der mittlere Bereich der Proben verbleibt in seinem nativen Zustand. Die Enden der Proben werden dagegen mit Hilfe eines Epoxidharzgemischs und Kunststoffplatten plastiniert. Die plastinierten und unfixierten Bereiche der Probe lassen sich klar differenzieren. Die mittlere Länge des unfixierten Prüfbereichs beträgt 70 mm. (Darstellung aus Sichtung et al., 2015)

Neben einem verbesserten Urteilsvermögen bezüglich quantitativer Unterschiede im Materialverhalten faseriger Bindegewebe kann die Evaluation des Messfehlers ebenso bedeutsam für die Untersuchung faseriger Bindegewebe in computerbasierten Simulationen sein. Simulationsstudien setzen für die Modellierung von faserigen Bindegeweben neben der exakten anatomischen Beschreibung eine möglichst genaue Angabe der mechanischen Eigenschaften voraus. Da die meisten mechanischen Kennwerte jedoch fehlerbehaftet sind, wird insbesondere für biomechanische Modellierungsansätze eine Sensitivitätsanalyse empfohlen (Oberkamp et

al., 2004; Anderson et al., 2007). Mit deren Hilfe kann der Einfluss des potentiell verfälschten Materialparameters auf das Gesamtergebnis evaluiert werden. Am Beispiel des Beckens konnten Anderson et al. (2005) in ihrer Finite-Elemente-Studie zeigen, dass sowohl die Dicke der kortikalen Knochenschicht als auch die mechanischen Eigenschaften des Knochenmodells maßgeblich die Übereinstimmungsergebnisse mit In-vitro-Deformationsanalysen beeinflussen. Die Autoren schlossen daraus, dass die Validität eines Simulationsergebnisses durch die zusätzliche Einschätzung des Einflusses personen- oder messgeräteabhängiger Parametervariation gesteigert werden kann (ebd.). Übertragen auf die sich im nächsten Kapitel anschließende Finite-Elemente-Simulation des Beckens, bei der die Bänder des Beckens Hauptbetrachtungsschwerpunkt sind, bedeutet dies, dass die Schwankung der mechanischen Eigenschaften faseriger Bindegewebe, welche durch Materialschlupf erzeugt wurden, bei der Beurteilung der stabilisierenden Wirkung der Beckenbänder mit einbezogen werden könnten. Untersuchungen zum Einfluss von Messfehlern können so zu einer wichtigen Voraussetzung für valide Simulationsstudien werden.

3.3 Pelvic Belt Effects on Sacroiliac Joint Ligaments: A Computational Approach to Understand Therapeutic Effects of Pelvic Belts

Autoren: Freddy Sichting, Jerome Rossol, Odette Soisson, Stefan Klima, Thomas Milani und Niels Hammer

Erschienen in: *Pain Physician* (2014), Vol. 17

Die Studie zum Einfluss einer Beckenorthese auf die ligamentären Strukturen des Beckenrings baut auf dem Wissen auf, dass die Bänder des Beckens für die Stabilität des Beckenrings von Bedeutung sind (Hammer et al., 2009; Hammer et al., 2010; Steinke et al., 2010). Es wurde vermutet, dass die Bänder des Beckens auch an der Entstehung chronischer Rückenschmerzen im Bereich des Iliosakralgelenks beteiligt sind. Unterstützt wurde diese Vermutung durch die Beobachtung einer schmerzreduzierenden Wirkung von Beckenkompressionsgurten (Soisson et al., 2015). Der wissenschaftliche Nachweis der zugrundeliegenden Wirkungsmechanismen eines solchen Gurtes ist bis dahin jedoch nicht erbracht worden. Um das komplexe Zusammenspiel ligamentärer und knöcherner Strukturen und die Wirkungsweise eines Beckenkompressionsgurtes umfassend analysieren zu können, wurde ein computerbasierter Modellierungsansatz gewählt. Für eine detaillierte Darstellung der Beckengeometrie und eine realitätsnahe Abbildung der beteiligten Strukturen und Randbedingungen wurden umfangreiche anatomische und biomechanische Untersuchungen durchgeführt. Zu nennen sind die exakten anatomischen Beschreibungen zum Verlauf der Bänder des Beckens (Hammer et al., 2009; Hammer et al., 2010; Steinke et al., 2010), die Segmentierung der knöchernen Strukturen des Beckenrings aus CT-Scans, die mechanische Testung straffer parallelfaseriger Bindegewebe und Druckverteilungsmessungen zur Beurteilung der Wirkung eines Beckenkompressionsgurtes.

Die Simulationsergebnisse des Zweibeinstandes bestätigen die in der Literatur bereits beschriebene Nutationsbewegung im Iliosakralgelenk. Mit der Berücksichtigung der komprimierenden Wirkung des Beckengurtes reduziert sich das Ausmaß der Nutation. Die Folge ist eine Entlastung der beckenstabilisierenden Bänder, insbesondere der Lig. sacrotuberales und sacrospinale. Jedoch ist die Dehnungsbeanspruchung der Bänder mit Längenänderungen im Mikrometerbereich sehr gering und weit entfernt vom Versagensbereich. Ausgehend davon kann vermutet werden, dass die Bänder des Beckens nicht allein zur mechanischen Stabilisierung des Beckens beitragen, sondern darüber hinaus an der sensomotorischen Kontrolle beteiligt sind. Wie aus dem Grundlagenteil dieser Arbeit bekannt, sind die Mechanorezeptoren

der faserigen Bindegewebe vermutlich in der Lage, minimale Längenänderungen im Submillimeterbereich wahrzunehmen und darüber eine motorische Antwortreaktion auszulösen. Die Kompressionswirkung eines Beckengurtes könnte demnach dazu beitragen, die Bänder des Beckens zu entlasten und darüber einen Einfluss auf die das Becken stabilisierende Muskulatur zu nehmen.

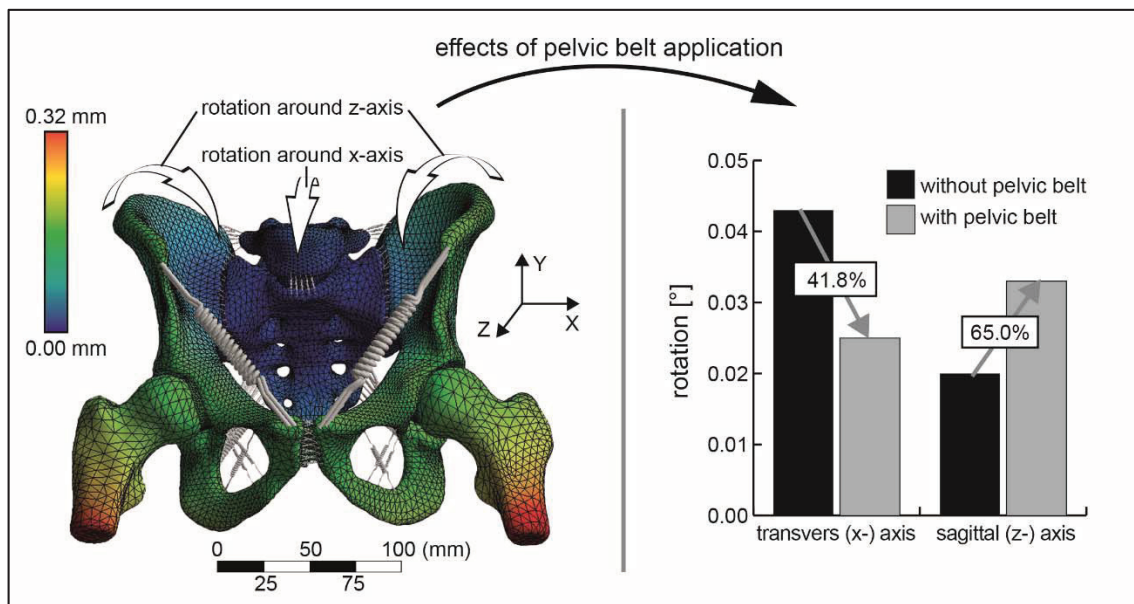


Abbildung 10: Beurteilung der Wirkungsweise eines Beckenkompressionsgurts auf die Bänder des Beckenrings mit Hilfe der Finite-Elemente-Analyse. Die Simulation des Zweibeinstandes ergab, dass die Kipptendenz des Beckens um die Transversalachse durch die Kompressionswirkung des Beckengurts reduziert wird. Aufgrund dessen werden auch die Lig. sacrotuberale und sacrospinale entlastet. (Darstellung aus Sichting et al., 2014)

Um diese Annahmen zu bestätigen und die Glaubhaftigkeit der zugrundeliegenden Simulationsergebnisse zu verbessern, sind, wie bereits im vorangegangenen Kapitel angesprochen, weiterführende Validierungsstudien und Sensitivitätsanalysen erforderlich. Bestätigen sich hierbei die vorgestellten Ergebnisse der Simulation, kann die Vermutung aufrechterhalten werden, dass die Bänder des Beckens neben der stabilisierenden auch eine sensorische Funktion besitzen. In diesem Zusammenhang wäre die anschließende Fragestellung denkbar, wie stark die Mechanorezeptoren bei einer Dehnungsbeanspruchung der Beckenbänder stimuliert werden. Ausgangspunkt dieser Fragestellung wäre die Annahme, dass die in straffen parallelfaserigen Bindegeweben wirkende Querkontraktion die Deformation der Mechanorezeptoren steuert. Das Ziel wäre es dann, das Ausmaß der Querkontraktion unter Zugbelastung quantifizieren zu können. Einen berührungslosen und kostengünstigen Ansatz hierfür stellt die Spektrophotometrie dar. Die Eignung dieser Technik für die mechanische Testung straffer Bindegewebe wird im kommenden Kapitel beschrieben.

3.4 Combined spectrophotometry and tensile measurements of human connective tissues: potentials and limitations

Autoren: Markus Ernstberger, Freddy Sichting, Tobias Baselt, Peter Hartmann, Gabriela Aust und Niels Hammer

Erschienen in: *Journal of Biomedical Optics* (2013), Vol. 18 (6)

Das Grundprinzip der spektrophotometrischen Untersuchung beruht darauf, dass Licht (Photonen) beim Auftreffen auf ein Medium in Folge von Wechselwirkungsprozessen reflektiert, absorbiert und transmittiert wird (Lange & Vejdělek, 1980). So beeinflusst die Dichte eines Mediums den Grad des reflektierten Lichtes. Durch Auflösung des Lichtes in sein elektromagnetisches Spektrum lassen sich weitere Rückschlüsse auf die Eigenschaften des untersuchten Mediums ziehen. Für organische Gewebe kann beispielsweise über die Analyse des ultravioletten Spektralbereichs auf die Anteile von Nucleinsäuren und Proteinen geschlossen werden, da deren Absorptionsbande mit diesem Spektralbereich korreliert (Ernstberger et al., 2013a; Noble, 2014). Im Infrarotbereich wird die Absorption dagegen hauptsächlich durch den Wassergehalt bestimmt (Tsubomura et al., 1980). Die nicht reflektierten und absorbierten Spektralanteile beschreiben die Durchlässigkeit des Gewebes und finden im Transmissionsgrad ihren Ausdruck.

Auf Grundlage dessen lassen sich kostengünstig und berührungslos zusätzliche Materialeigenschaften von organischen Geweben erfassen. Das Potential und die Limitierungen dieses Ansatzes für die Untersuchung straffer parallelfaseriger Bindegewebe wurden in der Studie zum Transmissionsverhalten des Tractus iliotibialis während eines einachsigen Zugversuches untersucht. Neun Tractusproben wurden hierfür präpariert und in eine Zugprüfmaschine eingespannt. Parallel dazu wurde der Transmissionsgrad mit Hilfe einer Halogenlichtquelle erfasst. Während der zyklischen Zugprüfung zwischen 20N und 100N zeigte sich eine Abnahme des transmittierten Lichtes mit zunehmender Zuglast (Abb. 11a). Gleichzeitig stieg der Transmissionsgrad über die 5 Lastzyklen stetig an. Die Spektralanalyse ergab, dass insbesondere die infraroten Anteile anstiegen, was darauf schließen lässt, dass die Proben während der Zugprüfung dehydrierten und somit weniger Licht durch Wasser absorbierten. Das Phänomen des abnehmenden Transmissionsgrades mit ansteigender Zuglast lässt sich dagegen durch die begleitende Querkontraktion des straffen parallelfaserigen Bindegewebes bei Längenänderung erklären. Zusätzliche mikroskopische Analysen bestätigten den Verdacht von sich bei Zuglast annähernden Kollagenfasern (Abb. 11b).

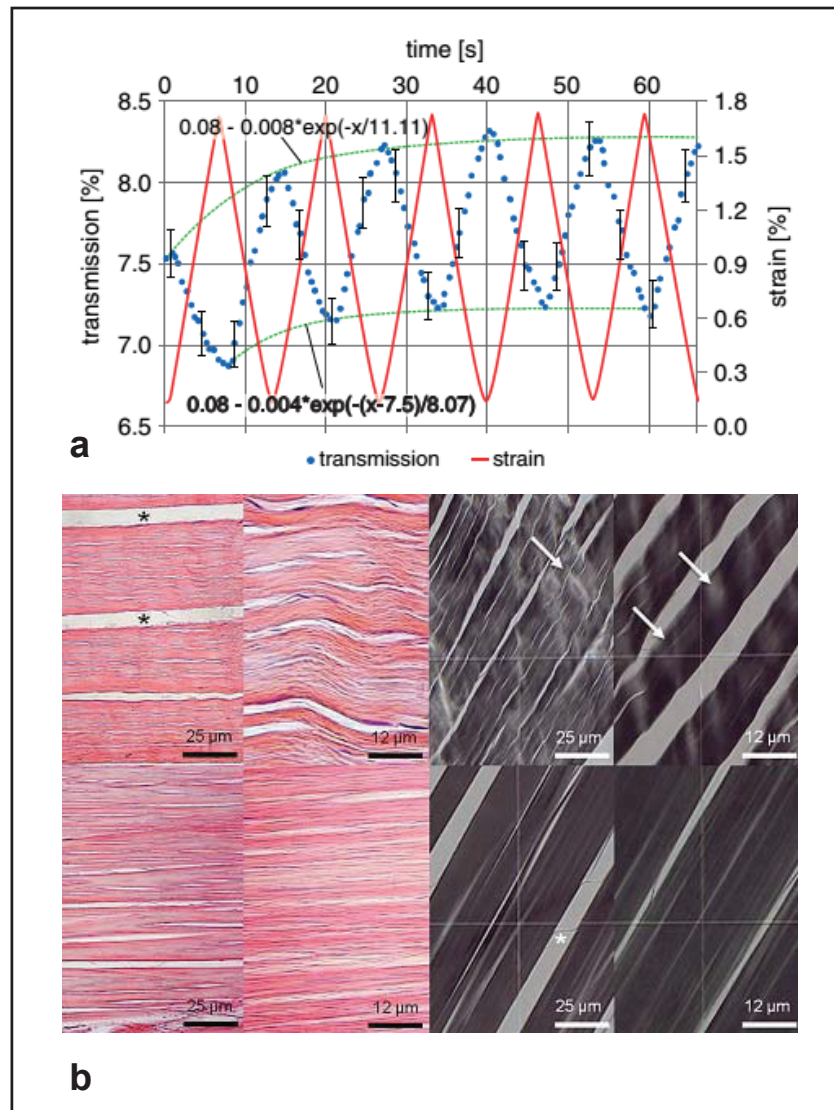


Abbildung 11: Ergebnisdarstellung des Transmissionsverhaltens des Tractus iliotibialis bei zyklischer Zugbelastung. Der abnehmende Grad der Transmission bei ansteigender Last (a) lässt sich über die parallelfaserige Struktur des Tractus erklären, wobei sich unter Last die einzelnen Faserbündel annähern und so die Transmission des Lichts reduzieren (b). (Darstellung aus Ernstberger et al., 2013)

Neben der Möglichkeit, die Bestandteile von faserigen Bindegeweben analysieren zu können, bietet die Spektrofotometrie damit auch das Potential, das strukturelle Verhalten, hier in Form der Querkontraktion, berührungslos quantifizieren zu können. Dies schafft die Grundlage für den Nachweis der im vorangegangenen Kapitel vermuteten Auslösung von mechanosensorischen Potentialen durch Dehnungsänderungen in faserigen Bindegeweben. Damit zeigt sich einmal mehr die Dringlichkeit vielfältiger biomechanischer Untersuchungen als Voraussetzung für eine umfassende Beschreibung faseriger Bindegewebe. Dass ein daraus folgendes funktionelles Verständnis im Allgemeinen und der Aufbau wirklichkeitsnaher Modelle im Speziellen jedoch nicht allein durch die separate Betrachtung einzelner faseriger Bindegewebe möglich ist, soll mit der nachfolgenden Studie deutlich gemacht werden.

3.5 The heel pad paradox revisited: observations on the functional relationship between plantar heel pad, Achilles tendon and plantar fascia

Autoren: Freddy Sichting, Niels Hammer und Thomas L. Milani

Eingereicht in: *Journal of Biomechanics* (Stand 22.12.2015: major revision)

In ihrer Computersimulation zum Deformationsverhalten des Fersenfettpolsters berücksichtigten Natali et al. (2011) den kammerartigen Aufbau des Fettpolsters, bestehend aus kollagenen Fasersepten. Ihre Simulationsergebnisse zeigten eine gute Übereinstimmung mit Untersuchungen eines frei präparierten Fersenfettpolsters in vitro. Allerdings wurden weder in der In-vitro-Untersuchung, noch in dem In-silico-Ansatz die in das Fersenfettpolster einstrahlenden Fasern der Achillessehne und Plantarfaszie berücksichtigt. Dabei wurde die Verbindung der Achillessehne und der Plantarfaszie mit den Fasersepten des Fettpolsters bereits in anatomischen Untersuchungen nachgewiesen und damit eine wichtige Voraussetzung für die Annahme geschaffen, dass sich die Zugwirkung der Achillessehne oder Plantarfaszie, im physiologischen Sinne, auf die Deformationseigenschaften des Fersenfettpolsters auswirken müsste. Würde sich dieser funktionelle Zusammenhang zwischen verschiedenen faserigen Bindegeweben bewahrheiten, müsste er auch in biomechanischen Untersuchungen berücksichtigt werden, ganz gleich ob in vitro oder in silico.

Um die mechanische Abhängigkeit zwischen der Zugwirkung der Achillessehne und Plantarfaszie auf die Deformationseigenschaften des Fersenfettpolsters zu überprüfen, wurden insgesamt 11 Spenderfüße unterhalb des Knies abgetrennt und einer mechanischen Prüfung unterzogen (Abb. 12). Mit Hilfe einer einachsigen Prüfmaschine wurde zyklisch eine vertikale Kraft am oberen Ende der Spenderfüße eingeleitet (10 bis 680 N, $v_{\text{Kompression}} = 134 \text{ N/s}$) und gleichzeitig die resultierende Deformation des Fersenfettpolsters mit Hilfe eines Ultraschallgeräts erfasst. Zusätzlich wurde die Achillessehne so präpariert, dass eine definierte Zuglast eingeleitet werden konnte. So war es möglich, die Deformation des Fersenfettpolsters in Abhängigkeit der Achillessehnenspannung zu analysieren. Zunächst wurde die Zuglast der Achillessehne schrittweise von 0 N bis 200 N um 50 N erhöht. Im Anschluss daran wurde die Plantarfaszie vollständig durchtrennt und erneut die Deformation des Fersenfettpolsters in Abhängigkeit einer steigenden Achillessehnenspannung analysiert. So sollte der Einfluss der Plantarfaszie auf die Eigenschaften des Fersenpolsters überprüft werden. Insgesamt wurde so das Deformationsverhalten des Fersenfettpolsters unter 10 verschiedenen Lastfällen untersucht. Im Ergebnis zeigte sich ein direkter Zusammenhang zwischen der Deformation des Fettpolsters und der Zugspannung der Achillessehne. Das zusätzliche Durchtrennen der Plantarfaszie hatte keine weitere Auswirkung auf die mechanischen Eigenschaften des Fettpolsters. Neben

der vertikalen Deformation konnte zusätzlich eine horizontale Verschiebung des Fersenpolsters relativ zum darüber liegenden Fersenbein festgestellt werden, die ebenfalls abhängig von der Zuglast der Achillessehne war. Aus der Analyse der Ergebnisse und des verwendeten Messaufbaus ergeben sich daraus drei Erklärungsansätze, welche den gefundenen Zusammenhang zwischen Achillessehnenspannung und Deformationsverhalten des Fersenfettpolsters beschreiben können. Es sind sowohl eine tatsächliche Beeinflussung der Kammersepten durch den Zug der Achillessehne aufgrund der beschriebenen anatomischen Verbindung der beiden Bindegewebsstrukturen als auch ein Messfehler, begründet im komplexen Versuchsaufbau, als Erklärungsansatz denkbar.

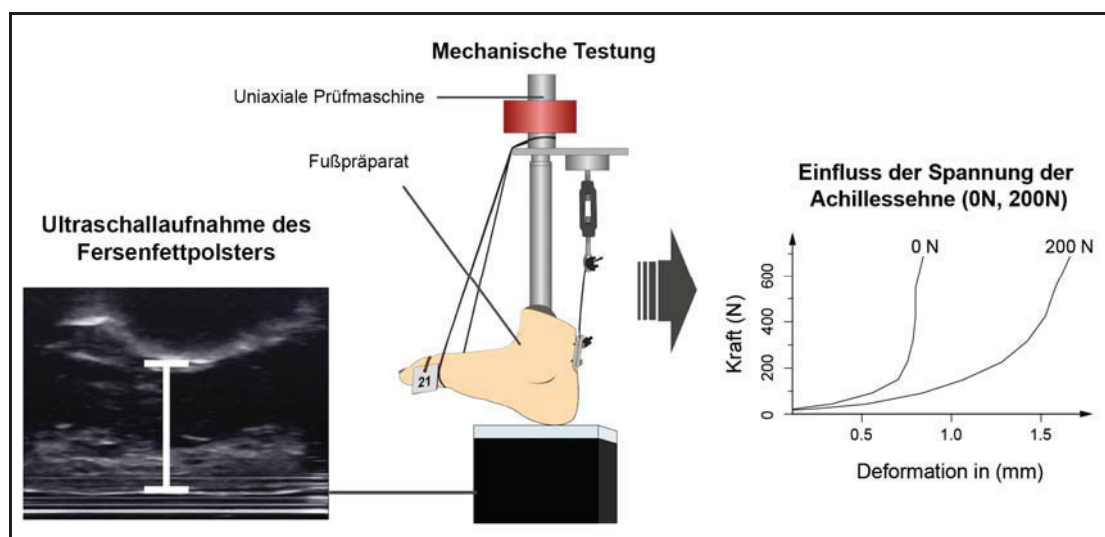


Abbildung 12: Illustrierte Darstellung des Versuchsaufbaus zur Untersuchung des Einflusses der Achillessehne und Plantarfaszie auf die mechanischen Eigenschaften des Fersenfettpolsters. Die Deformation des Fersenpolsters wurde mit Hilfe eines bildgebenden Ultraschallverfahrens aufgezeichnet (links). Der Einfluss der Achillessehne wurde mit Hilfe einer Stellschraube variiert (Mitte) und so die Deformation des Fersenfettpolsters in Abhängigkeit der Achillessehnenspannung gemessen (rechts). (Eigene Darstellung)

Auch wenn aus der weiterhin bestehenden Unklarheit zum tatsächlichen Einfluss der Achillessehne auf die mechanischen Eigenschaften des Fersenfettpolsters zunächst die Forderung nach weiterführenden Studien hervorgeht, wird trotz allem das komplexe Zusammenspiel faseriger Bindegewebe deutlich. Neben der separaten Untersuchung einzelner faseriger Bindegewebe sind derartige Ansätze speziell in rechnergestützten Modellierungsstudien zu berücksichtigen und können allgemein zu einem besseren funktionellen Verständnis faseriger Bindegewebe führen. Der wissenschaftliche Beitrag, welcher sich damit insgesamt aus den einzeln vorgestellten Ansätzen zur biomechanischen Untersuchung faseriger Bindegewebe ergibt, soll abschließend diskutiert werden.

4 Abschlussdiskussion

Ausgehend von den behandelten Grundlagen und eigenen Untersuchungen faseriger Bindegewebe verbleiben für die abschließende Diskussion folgende Fragen: „Welchen Beitrag können die in dieser Arbeit vorgestellten biomechanischen Untersuchungen zum funktionellen Verständnis des faserigen Bindegewebes im menschlichen Bewegungsapparat leisten?“, „Wie sind die Ergebnisse und die daraus gewonnenen Erkenntnisse allgemein im Kontext einer ganzheitlichen Betrachtung des menschlichen Bewegungsapparates einzuordnen?“ und „Lassen sich aus den Ergebnissen der eigenen Untersuchungen sogar neue ‚Erfahrungswerte‘ für den eingangs vorgestellten Fall des Holger Badstuber ableiten?“. Anhand dieser Leitfragen sollen zuerst die eigenen Untersuchungen kurz zusammengefasst hinsichtlich ihrer Bedeutung für verschiedene Fachdisziplinen dargestellt werden. Die daran anschließende Auseinandersetzung mit den Möglichkeiten und Grenzen der verfolgten Untersuchungsansätze soll dazu beitragen, ein kritisches Verständnis für die bestehenden Methoden der biomechanischen Untersuchung faseriger Bindegewebe zu entwickeln. Dieses vorausgesetzt, werden schließlich die bestehenden Ansätze zur Untersuchung faseriger Bindegewebe allgemein im Kontext einer ganzheitlichen Betrachtung des menschlichen Bewegungsapparates eingeordnet und neue Perspektiven hinsichtlich eines funktionellen Verständnisses aufgezeigt.

Das funktionelle Verständnis faseriger Bindegewebe setzt ein breites Spektrum von Untersuchungsansätzen auf unterschiedlichen Betrachtungsebenen voraus

Aus der Untersuchung zum Einfluss zellulärer Bestandteile auf die mechanischen Eigenschaften straffer parallelfaseriger Bindegewebe konnte als erste Erkenntnis hinzugewonnen werden, dass die zugresistenten Eigenschaften nach Dezellularisierung nahezu unverändert bleiben (Hammer et al., 2014). Einzig die Dehngrenze bei maximaler Zuglast scheint durch das Verfahren beeinflusst zu werden. Die daraufhin diskutierten, strukturbedingten Erklärungsansätze gewinnen dann an Glaubhaftigkeit, wenn unterstützend die Ergebnisse aus der Untersuchung zum Einfluss des Materialschlupfs auf die mechanischen Eigenschaften straffer parallelfaseriger Bindegewebe zugrunde gelegt werden (Sichting et al., 2015). Die mit Hilfe eines optischen Dehnungsmesssystems ermittelten Daten deuten darauf hin, dass die gefundenen Unterschiede zwischen nativen und zellfreien Gewebeproben größer sind, als der durch den Messaufbau zu erwartende Messfehler in Form von Materialschlupf. Dieses Ergebnis unterstützt die Annahme, dass die gesteigerte Dehngrenze auf strukturbedingte Veränderungen zurückgeführt werden kann. Daran wird der Beitrag eines methodenorientierten Ansatzes zur Beurteilung der Güte eines Messverfahrens deutlich. Gleichzeitig können die erhobenen Messfehler auch für Sensitivitätsanalysen im Bereich der computergestützten Simulation verwendet werden. Die Berücksichtigung von Schwankungen in den mechanischen Eigenschaften, welche auf Messfehler zurückzuführen sind, kann einen wichtigen Beitrag zur Beurteilung

der klinischen Relevanz von computerbasierten Untersuchungen leisten (Viceconti et al., 2005). So könnte auch die klinische Relevanz der vorgestellten Untersuchung zur Kompressionswirkung von Beckenorthesen durch die Ergänzung einer Sensitivitätsanalyse gesteigert werden.

Mit Hilfe der Finiten-Elemente-Analyse wurde gezeigt, dass für den Lastfall des Zweibeinstandes die Dehnungsbelastung der ligamentären Strukturen des Kreuzdarmbeingelenks gering ist. Neben dem zeigte sich, dass insbesondere das Lig. sacrotuberale und sacrospinale durch die Kompressionswirkung einer Beckenorthese entlastet werden. Auf Grundlage dieser Erkenntnisse und dem Wissen, dass der Einsatz einer Beckenorthese bei Patienten mit tiefem Rückenschmerz zu einer Schmerzminderung beitragen kann (Soisson et al., 2015), wurde eine zusätzliche sensorische Funktion der faserigen Bindegewebe im Bereich des Beckens vermutet. Auch wenn es sich hierbei nur um einen hypothetischen Ansatz handelt, wurde mit Hilfe des computerbasierten Untersuchungsansatzes ein Beitrag dazu geleistet, eine potentielle, bisher nur unzureichend berücksichtigte sensomotorische Funktion der Lig. sacrotuberale und sacrospinale und damit in Verbindung stehender muskulärer Strukturen aufzudecken. Um ein besseres Verständnis entwickeln zu können, wie die in den Bindegeweben vermuteten Mechanorezeptoren auf eine Längenänderung reagieren, ist es möglich, die aus der Untersuchung des Transmissionsverhaltens des Tractus iliotibialis bei Zugbeanspruchung abgeleiteten Mechanismen zu übertragen (Ernstberger et al., 2013b). Mit Hilfe des optischen Transmissionsansatzes konnte für straffe parallelfaserige Bindegewebe das Querkontraktionsverhalten bei Zugbeanspruchung quantifiziert werden. Diese durch eine Längenänderung bedingte Annäherung der kollagenen Fasern dient als Grundlage für die Deformation von zwischen den Fasern lagernden Mechanorezeptoren. Der vorgestellte Ansatz der Transmissionstechnik kann damit nicht nur als berührungslose Methode zur Überwachung des Zugversuchs eingesetzt werden, sondern bietet auch das Potential, strukturbedingte Mechanismen des faserigen Bindegewebes, wie das Querkontraktionsverhalten, aufzudecken oder zu quantifizieren.

Für ein funktionelles Verständnis faseriger Bindegewebe sind jedoch nicht nur intrastrukturelle Mechanismen von Bedeutung, sondern auch interstrukturelle. Diese können allgemein zu einem umfassenderen Verständnis des Abhängigkeitsverhältnisses faseriger Bindegewebe untereinander, aber auch damit in Verbindung stehenden Geweben wie Muskeln oder Knochen beitragen. Gleichzeitig können diese Erkenntnisse Ausgangspunkt für umfassendere Modellierungsansätze sein. Mit Hilfe des vorgestellten In-vitro-Ansatzes zur funktionellen Verbindung von Achillessehne, Fersenfettpolster und Plantarfaszie sind erste biomechanische Beweise für eine funktionelle Abhängigkeit von anatomisch eng miteinander verbundener, faseriger Strukturen am Fuß erbracht worden. Diese Erkenntnis hebt noch einmal deutlich hervor, dass Ver-

änderungen in den faserigen Bindegeweben einen direkten oder indirekten Einfluss auf anatomisch eng verknüpfte Gewebe haben. Die Veränderungen können mechanischer oder neurologischer Natur sein, hervorgerufen beispielsweise durch Dezellularisierung oder den Einfluss von unterstützenden Orthesen.

Von den biomechanischen Erkenntnissen zu faserigen Bindegeweben profitiert eine Vielzahl unterschiedlicher Fachbereiche

Auch wenn die in dieser Arbeit vorgestellten Untersuchungen sich auf Erkenntnisse zum mechanischen Verhalten des Tractus iliotibialis, zur Wirkung einer Beckenorthese oder zum Einfluss der Achillessehne auf die Spannung der faserigen Septen des Fersenfettpolsters stützen, bieten die verwendeten Untersuchungsansätze das Potential, auch zur Beantwortung von Fragestellungen mit vergleichbaren Bindegewebsarten herangezogen zu werden. Für das vorgestellte Beispiel des Holger Badstuber lassen sich aus den präsentierten Untersuchungen potentielle Ansätze ableiten, welche in den verschiedenen Fachbereichen die Anzahl erforderlicher Erfahrungswerte steigern könnten. So würden die Untersuchungen zur Dezellularisierung des Tractus iliotibialis dafürsprechen, dass zellfreie straffe parallelfaserige Bindegewebe, denen auch das Kreuzband zuzuordnen ist, mit nativen Geweben vergleichbare mechanische Eigenschaften besitzen und unter diesem Gesichtspunkt für eine Transplantation geeignet wären. Anschließend ließen sich die Belastung der neu eingesetzten Kreuzbänder und die Wirkung einer die Kreuzbänder entlastenden, orthopädisch angepassten, Knieorthese mittels Finite-Elemente-Methode analysieren und bewerten. Möglicherweise würde auch der behandelnde Therapeut durch komplexere Kadaverstudien eine genauere Vorstellung über das Kreuzband und die mit ihm in Verbindung stehenden (faserigen) Gewebe entwickeln. Für einen interdisziplinären Personenkreis hätten die vorgestellten Untersuchungen also einen Beitrag zur Beantwortung spezifischer Fragestellungen zum faserigen Bindegewebe geleistet. Allerdings bleibt trotz aller hinzugewonnenen Erkenntnisse Zweifel an der womöglich wichtigsten Frage, der Frage, ob Holger Badstuber nach diesem neuartigen Eingriff gegen den Erzrivalen Borussia Dortmund rechtzeitig wieder auf dem Platz stehen kann. Ebenso wenig ist davon auszugehen, dass die verfolgten Ansätze zur biomechanischen Charakterisierung faseriger Bindegewebe für konkrete Vorhersagen über ein erneutes Verletzungsrisiko ausreichend sind.

Die analytische Ausrichtung bei der biomechanischen Untersuchung faseriger Bindegewebe stößt an die Grenzen eines komplexen Verständnisses

Woran liegt es, dass die bestehenden Untersuchungsansätze faseriger Bindegewebe, bei dem Bestreben, komplexe Fragestellungen zu beantworten, scheinbar an Grenzen stoßen? Sollte es nicht möglich sein, durch eine ausreichende Anzahl an Einzelerkenntnissen das komplexe

Ganze zu verstehen? Dass sich diese Frage schon jetzt mit „Nein“ beantworten lässt, wird allein mit dem Verweis auf Aristoteles' Ausspruch

„Das Ganze ist mehr als die Summe seiner Teile“³

und den darauffolgenden erkenntnistheoretischen Auseinandersetzungen (Böcher, 1992; Chalmers, 1999; Chalmers, 2007) erkennbar. Worin die Limitierungen der aktuellen biomechanischen Untersuchungsansätze in Bezug auf faserige Bindegewebe liegen können, soll an Beispielen der in dieser Arbeit vorgestellten Beiträge erörtert werden.

Allgemein liegt der Vorteil von In-vitro-Untersuchungen darin, standardisierte und kontrollierte Versuchsbedingungen zu schaffen. Wie in den eigenen Untersuchungen gezeigt wurde, lassen sich die zu testenden Proben faseriger Bindegewebe in standardisierte Formen bringen, entlang ihrer Faserausrichtung testen oder bis in ihre kleinsten Bestandteile analysieren. Am Beispiel des Tractus iliotibialis lassen sich aufgrund seiner großflächigen Erscheinung eine Vielzahl parallelfaseriger Bindegewebsproben herstellen, welche die Voraussetzung bilden, repräsentative (Mittel-)Werte angeben zu können. Zudem eignen sich die Proben für das Verfahren der partiellen Plastination (Steinke et al., 2012; Hammer et al., 2012), wodurch potentielle Messfehler reduziert werden können (Sichting et al., 2015).

Auch wenn sich so reliabel mechanische Eigenschaften ermitteln lassen, bleibt zu berücksichtigen, dass faserige Bindegewebe in ihrer Entstehung und strukturellen Zusammensetzung verschieden sind (vgl. Kapitel 2). Die Eigenschaften des Tractus lassen sich nur bedingt auf weitere faserige Bindegewebe übertragen, auch wenn diese den straffen parallelfaserigen zuzuordnen sind. Unter Berücksichtigung dessen erscheint es fraglich, ob die in der In-silico-Untersuchung zur Wirkung eines Beckengurtes auf die Bänder des Beckens eingesetzten mechanischen Eigenschaften des Tractus iliotibialis, einer beim Gehen und Laufen stark beanspruchten Gewebestruktur (Eng et al., 2015), das Spannungs-Dehnungs-Verhalten der stabilisierenden Beckenbänder angemessen repräsentieren. Bisher ist dem Autor der vorliegenden Arbeit nur eine Studie bekannt, welche das mechanische Verhalten der Lig. sacrotuberales und sacrospinale untersucht hat und geringere Steifigkeitseigenschaften im Vergleich zum Tractus vermuten lässt (Shobeiri et al., 2000). Dass sämtliche in der Literatur beschriebenen Computermodelle des Beckens zur Repräsentation der mechanischen Bänderseigenschaften dennoch auf Ersatzmodelle zurückgreifen (unter anderem Eichenseer et al., 2011; Li et al., 2010 und Pel et al., 2008), ist gleichzeitig auf die allgemein limitierte mechanische Testbarkeit faseriger Bindegewebe zurückzuführen. Am Beispiel des Beckens sind viele Bandstrukturen in ihrem

³ verkürztes Zitat, Ausführlicher: "Das, was aus Bestandteilen so zusammengesetzt ist, dass es ein einheitliches Ganzes bildet – nicht nach Art eines Haufens, sondern wie eine Silbe –, das ist offenbar mehr als bloß die Summe seiner Bestandteile. Eine Silbe ist nicht die Summe ihrer Laute: ba ist nicht dasselbe wie b plus a, und Fleisch ist nicht dasselbe wie Feuer plus Erde."

Verlauf sehr kurz und nur schwer zu präparieren. Eine standardisierte und zuverlässige mechanische Zugprüfung ist unter diesen Voraussetzungen kaum möglich. Zudem ist die Anzahl der testbaren Materialproben im Vergleich zum Tractus gering. Die Angabe repräsentativer Daten wird hierdurch erschwert und erfordert in den meisten Fällen Ersatzdaten von vergleichbaren faserigen Bindegeweben.

Aus diesem Dilemma werden zugleich die Anforderungen an exakte Untersuchungen faseriger Bindegewebe in vitro deutlich. Die zu untersuchenden Bindegewebe sollten sich möglichst klar abgrenzen und einfach handhaben lassen. Diesem scheinbaren Selbstverständnis exakten wissenschaftlichen Arbeitens schließt sich jedoch die Frage an, inwiefern sich die in Kapitel 2 als körperumspannendes Netzwerk dargestellten faserigen Bindegewebe in vitro überhaupt abbilden lassen? Nach Böcher (1992) erfüllen faserige Bindegewebe alle Kriterien eines Systems komplexer Art. Faserige Bindegewebe bestehen aus einer großen Anzahl von Einzelteilen, welche in ihrer Erscheinung verschieden sind und untereinander in wechselseitiger Abhängigkeit stehen. Demzufolge sind auch die daraus entstehenden Probleme komplexer Art. Nun lassen sich aber gerade diese Probleme nur unzureichend mit Hilfe analytischer, fragmentierter Methoden erfassen (Böcher, 1992). Zurückzuführen ist dies auf die zunehmende Kompliziertheit des Problems. Damit gemeint ist der Versuch, auch die bestehenden Vernetzungen der einzelnen Bestandteile ausreichend zu beschreiben (ebd.). Je mehr in Verbindung stehende faserige Bindegewebe und damit eingeschlossene muskuläre und knöcherne Gewebe getestet werden, umso mehr mögliche Interaktionen zwischen diesen Geweben entstehen daraus. Am Beispiel des Zusammenspiels zwischen Achillessehne, Fersenfettpolster und Plantarfaszie konnte gezeigt werden, dass den dargestellten Ergebnissen mindestens drei unterschiedliche Erklärungsansätze zugrunde gelegt werden können. Allein die Vernetzung von Achillessehne, Fasersepten des Fersenfettpolsters und Plantarfaszie erscheint demnach ausreichend kompliziert, um in Hinblick auf den vorgestellten Versuchsaufbau das Bestreben auszulösen, einzelne Einflussfaktoren besser kontrollieren zu können und damit den Grad der Komplexität zu verringern. Letztlich steht dieser Ansatz jedoch dem Ziel entgegen, faseriges Bindegewebe und dessen Funktion möglichst realitätsnah abzubilden. In-vitro-Untersuchungen faseriger Bindegewebe scheinen hier an Grenzen zu stoßen.

Einen alternativen Ansatz zum Verständnis komplexer Vernetzung faseriger Bindegewebe bietet die Anwendung computerbasierter Simulation. Durch das Lösen komplexer mathematischer Gleichungssysteme kann die Interaktion von in Verbindung stehenden faserigen Bindegeweben oder muskulären und knöchernen Geweben analysiert werden. Die Grundlage der Berechnungen des Gesamtsystems liefern die Ergebnisse aus Untersuchungen der einzelnen Bestandteile. Der potentielle Beitrag dieses Ansatzes für ein funktionelles Verständnis ergibt

sich aus einem Vergleich der Simulationsdaten mit repräsentativen In-vivo-Daten. Bei unzureichender Übereinstimmung ist davon auszugehen, dass entweder einzelne Bestandteile oder Vernetzungen nur unzureichend repräsentiert sind oder bisher nicht berücksichtigt wurden. Exemplarisch sei hier die bereits diskutierte Verwendung mechanischer Eigenschaften des Tractus iliotibialis zur Beschreibung der Bänder des Beckens genannt. Während bei In-vivo-Untersuchungen Rotationsbewegungen des Iliosacralgelenks bis zu $2,3^\circ$ gemessen wurden (Sturesson et al., 1999; Sturesson et al., 2000a; Sturesson et al., 2000b), bleiben die eigenen Ergebnisse mit $0,05^\circ$ weit unter diesen Werten (Sichting et al., 2014). Möglicherweise wurden die zugresistenten Eigenschaften der Beckenbänder überschätzt. Ließe sich durch das Anpassen der Eigenschaftswerte eine bessere Übereinstimmung mit In-vivo-Daten erzielen, wäre somit indirekt ein Beitrag für ein verbessertes Verständnis, in dem Fall der mechanischen Eigenschaften faseriger Bindegewebe, geleistet. Wird dieser Gedanke weiterverfolgt und auf den Ansatz des Modellierens allgemein übertragen, würde damit die Annahme Vicecontis' (2015) bestätigt werden, dass der menschliche Bewegungsapparat nur eine komplexe Ansammlung von Einzelteilen ist und sich mit Hilfe von Computersimulationen berechnen lässt. Ein umfassendes Verständnis ist diesen Ausführungen zufolge bisher einzig an der unzureichend genauen Beschreibung der einzelnen Bestandteile gescheitert (Viceconti, 2015).

Zweifel an diesem Ansatz entstehen jedoch bereits dadurch, dass die Beschreibungen der einzelnen Bestandteile mehrheitlich In-vitro-Untersuchungen entstammen. Dieser Umstand greift die bereits dargestellten Grenzen von In-vitro-Untersuchungen wieder auf. Hinzu kommt, dass die Untersuchungen systematischen und zufälligen Messfehlern sowie einer zum Teil limitierten Messbarkeit unterliegen. Die Summe der bestehenden Messfehler und dessen Einfluss sollte ebenfalls in einem Computermodell berücksichtigt werden. Wie weitreichend zudem die Beschreibung der einzelnen Bestandteile am Beispiel der faserigen Bindegewebe reichen müsste, verdeutlichen Untersuchungen von Kapreli et al. (2009). Darin konnte nachgewiesen werden, dass sich nach einer Kreuzbandruptur plastische Veränderungen im Bereich des motorischen Kortex ergeben. Auf Grundlage dieser Ergebnisse wird nicht nur die Bedeutung faseriger Bindegewebe für die sensomotorische Kontrolle unterstrichen, vielmehr wird das Vermögen lebender Systeme, sich an veränderte Situationen und Einflüsse anzupassen, deutlich. Dieses Potential der strukturellen Veränderung müsste ebenso in den meisten Modellierungsansätzen berücksichtigt werden, wie die Vielzahl individueller Anpassungserscheinungen, die in jedem Bewegungssystem entstehen können. Selbst wenn es gelingen würde, all diese Faktoren zu berücksichtigen, würde eine Übereinstimmung der In-silico-Daten mit der Wirklichkeit nicht zwangsläufig das komplexe Zusammenspiel faseriger Bindegewebe

erklären. Es wäre lediglich ein Lösungsweg ermittelt, welcher zum Ergebnis „Wirklichkeit“ geführt hat. Es müssten jedoch alle in Frage kommenden Ergebnisse, welche sich durch die Vernetzung der einzelnen Bestandteile ergeben, betrachtet und diskutiert werden. Denn im Grunde basiert die Finite-Elemente-Modellierung auf der Mathematik und hier ergibt die Summe aus $1+3+5$ genauso 9, wie $2+3+4$. Eindrucksvoll wird dies in einer Untersuchung der Gruppe um Cavanagh deutlich. Eine Übereinstimmung der plantaren Druckverteilung in vivo und in silico wird hier über zwei sehr verschiedene Annahmen zu den Bestandteilen des Fußes erreicht (Telfer et al., 2015). Neben diesem Summierungsproblem müsste streng genommen die Übereinstimmung mit der Wirklichkeit an einer Person validiert werden, der gleichzeitig u.a. faserige Bindegewebe entnommen wurden, um sie in vitro zu testen und als Grundlage für die Modellierung zu nutzen. Da diese Forderung jedoch nahezu unmöglich erscheint, hüllt der Ansatz der Modellierung sich somit in einen Mantel der Unangreifbarkeit. Die Ergebnisse der Berechnungen können stimmen, die Übereinstimmung mit der Wirklichkeit lässt sich jedoch nicht endgültig kontrollieren.

Quo vadis? Wodurch lässt sich ein umfassendes funktionelles Verständnis faseriger Bindegewebe verbessern?



Abbildung 13: Sinnbild der aktuellen Betrachtungsweise faserige Bindegewebe? Bei der Frage nach der funktionellen Bedeutung faseriger Bindegewebe werden häufig nur die einzelnen Bestandteile betrachtet. Dabei lässt sich auch der Geschmack eines Kuchens nicht allein durch seine Zutaten erklären. (Eigene Darstellung)

Resümierend wird aus den aufgeführten Argumenten deutlich, dass die analytische Ausrichtung bestehender Untersuchungsansätze begrenzt ist. Trotz allem leisten diese Ansätze einen entscheidenden Beitrag für ein funktionelles Verständnis faseriger Bindegewebe. Um diesen

Beitrag besser einordnen zu können, soll abschließend ein Gleichnis verwendet werden. Gegenstand des Gleichnisses soll der in Abbildung 13 dargestellte Kuchen sein, verbunden mit der Frage, weshalb dieser Kuchen - subjektiv gesehen - so gut gelungen ist und schmeckt.

Würden die in dieser Arbeit vorgestellten Ansätze zum Beantworten der Frage nach dem Gelingen genutzt werden, würde der Kuchen vermutlich zunächst in seine einzelnen Schichten zerteilt werden. Anschließend würden diese Schichten wiederum bis in seine einzelnen Bestandteile analysiert werden. Am Ende wären jede Zutat des Kuchens und dessen Verhalten bei Vermengung oder Erhitzung bekannt und damit eine wichtige Voraussetzung für die Herstellung des Kuchens geschaffen. Doch all dieses Wissen würde nicht ausreichen, um die Frage des Gelingens beantworten zu können, ebenso wenig wie das Wissen der einzelnen Bestandteile des Bindegewebes dessen einzigartige Funktion im Bewegungsapparat erklärt. Ein anderer Ansatz den Kuchen besser begreifen zu können, wäre dann, einzelne Stücke herauszuschneiden, um über das Zusammenwirken der einzelnen Lagen ein Verständnis aufzubauen. Es kommt hierdurch die Erkenntnis dazu, dass das Zusammenspiel mehrerer Aromen in den verschiedenen Schichten zu einem völlig neuen Geschmackserlebnis führt. Doch auch hier lässt sich nicht ohne weiteres von einem Stück auf den gesamten Kuchen schließen. Ebenso wenig, wie von dem straffen parallelfaserigen Bindegewebe an der Oberschenkelaußenseite auf die straffe parallelfaserige Verbindung zwischen Kreuzbein und Darmbein geschlossen werden kann. Was die hier dargestellten analytischen Untersuchungsansätze geschaffen haben, ist ein umfassendes Verständnis für die einzelnen Bestandteile und die Mechanismen, welche sich aus der Interaktion interner und externer Faktoren ergeben. Dies gilt für die Beantwortung der Frage nach dem gelungenen, gut schmeckenden Kuchen ebenso wie für die funktionelle Bedeutung des faserigen Bindegewebes. Für den Kuchen ist damit ein wichtiger Beitrag geschaffen, zu verstehen, „wie“ der Kuchen aufgebaut ist. Um die Frage nach dem „warum“ der Kuchen so gut gelungen ist und gut schmeckt, muss jedoch die Perspektive erweitert werden. Erst dann würde nachvollziehbar werden, dass der Kuchen nur deshalb so gelungen ist, da der Konditor über 30 Jahre Erfahrung hat und der Kuchen unter Bedingungen entstanden ist, die für sein Entstehen optimal waren. Hinzu kommt die subjektive Note des Verkosters, welche, bedingt durch seine Erfahrung, Vergleichsmöglichkeiten und individuelle Präferenz, jede Menge Interpretationsmöglichkeiten und Einschätzungen des Kuchens zulässt.

Wird dieses Gleichnis nun auf das faserige Bindegewebe übertragen, liegt der Beitrag analytischer Untersuchungsansätze in der Biomechanik darin, die einzelnen Bestandteile, zellulär und extrazellulär, zu charakterisieren und sich daraus ergebende Mechanismen aufzudecken. Bei der Untersuchung faseriger Bindegewebe ist dies ein elementarer Bestandteil, jedoch unzureichend, um die funktionelle Bedeutung verschiedener faseriger Bindegewebe umfassend

zu erkennen. Allein über diesen Ansatz wird es nicht gelingen, beurteilen zu können, weshalb faserige Bindegewebe einzigartig in ihrem Aufbau sind, spezifische Aufgaben erfüllen können und sich teilweise pathologisch verändern. Das bisher zur Beantwortung solcher Fragen gestellte „warum“ entspricht eher dem eines „wie“. Warum beispielsweise der Tractus iliotibialis so zugresistente Eigenschaften besitzt, wird durch die meisten Ansätze eher entsprechend einer Frage nach dem Wie beantwortet – durch die Ausschüttung zahlreicher zugresistenter Tropokollagene Typ I, welche sich über starke Zwischenverbindungen parallelfaserig zur Zugrichtung anordnen. Die eigentliche Beantwortung des Warums ergibt sich erst aus der entwicklungsgeschichtlichen Betrachtung und der daraus abgeleiteten Annahme, dass der Tractus eine entscheidende Rolle für den aufrechten Gang spielt und für das Speichern elastischer Energie während des Laufens von Bedeutung ist (Eng et al., 2015). Die Entstehung pathologischer Veränderungen des Tractus iliotibialis, beispielsweise das Iliotibiale-Bandsyndrom (ugs. Läuferknie), lässt sich nicht allein durch das Wissen über die zugresistente Eigenschaft von Kollagen, die Ausschüttung von Entzündungsstoffen bei Verletzung der Faserstruktur oder daraus folgenden sensomotorischen Konsequenzen erklären. Erst unter Berücksichtigung der (evolutionären) Entstehungsgeschichte ließe sich die pathologische Veränderung des Tractus iliotibialis möglicherweise umfassend verstehen. Zum Beispiel dann, wenn die Veränderung mit einer mangelnden Anpassung an die von außen wirkenden Umwelteinflüsse während des Laufens in Verbindung gebracht wird. Grundlage der mangelnden Anpassung und den folgenden pathologischen Erscheinungen wären vermutlich eine unzureichende Anzahl zugresistenter Kollagenfasern und die Ausschüttung von Entzündungsstoffen. Neben der analytischen Betrachtung faseriger Bindegewebe erfordert ein umfassendes funktionelles Verständnis demnach ebenso die Berücksichtigung der durch Umwelteinflüsse beeinflussten Entwicklungsgeschichte faseriger Bindegewebe. Für die allgemeine biomechanische Betrachtung des menschlichen Bewegungsapparates entspricht dies der Berücksichtigung seiner evolutionären Entstehungsgeschichte.⁴ Für Holger Badstuber dagegen zählt neben den neuen Erfahrungswerten vor allem sein Wille, Ehrgeiz und die Fähigkeit, sich an die veränderten Bedingungen anpassen zu können, um gegen den Erzrivalen Borussia Dortmund wieder auf dem Platz stehen zu können.⁵

⁴ Allgemein formuliert entspricht diese Feststellung der Überzeugung von Theodosius Dobzhansky, dass „Nothing in biology makes sense except in the light of evolution.“ (Dobzhansky, 1964)

⁵ Am 07. November 2015 stand Holger Badstuber gegen den VfB Stuttgart wieder auf dem Platz und wird vermutlich auch in der Rückrunde am 05. März 2016 gegen Borussia Dortmund auf dem Platz stehen können.

5 Schlussbemerkung

In dieser Arbeit möchte ich bewusst auf die üblicherweise zu Beginn oder am Ende stehende Danksagung verzichten. Dabei mangelt es nicht an unermesslichem Dank, den ich so vielen Menschen aus meinem Umfeld aussprechen möchte. Vielmehr habe ich festgestellt, dass es sich bei der Dankbarkeit ähnlich verhält, wie mit der wissenschaftlichen Betrachtung von faserigem Bindegewebe: eine enge Sichtweise würde vermutlich wichtige Menschen auslassen, eine umfassende Sichtweise wäre unheimlich komplex. So müsste der Dank schon früh in meiner Kindheit beginnen, womöglich als meine Eltern mich beim Schwimmsport anmeldeten und so den Grundstein für meine jetzige Faszination am menschlichen Bewegungsapparat legten. Es müsste dem Sport und all seinen beteiligten Personen gedankt werden. Hier habe ich gelernt, Ziele diszipliniert und ehrgeizig zu verfolgen. Vielleicht sollte ich auch der mir unbekannten Person danken, welche auf dem Arbeitsamt unter der Rubrik „Sport“ das Berufsfeld des Sportgerätetechnikers eingeleitet hatte; oder der Person, welche das Vorlesungsskript zur belastungsgerechten Gestaltung des Tennisschlägers online gestellt und mit dem Link „Sportgerätetechnik“ versehen hatte, was mich letzten Endes an die Technische Universität Chemnitz brachte. Durch meine langjährige Hiwi-Tätigkeit am Institut für Strukturleichtbau ebnete sich mir der Weg zum wissenschaftlichen Arbeiten – auch hierfür bin ich dankbar. Durch glückliche Umstände bin ich dann zum Ende meines Masterstudiums mit dem Institut für Anatomie in Leipzig in Kontakt gekommen und hier auf ein unglaublich engagiertes und umtriebiges Team gestoßen, welches mir eine weitere Tür in die faszinierende Welt des menschlichen Bewegungsapparates öffnete. Für die Möglichkeiten und Freiheiten an der Professur Bewegungswissenschaft bin ich ebenso dankbar, wie den Autoren der zahlreichen wissenschaftlichen Konferenzbeiträge und Publikationen, welche zum Nachdenken eingeladen haben. Wären all diese schönen Umstände nicht zustande gekommen, wäre auch diese Arbeit nicht entstanden. Auf dem Weg dahin haben mich eine Reihe wundervolle Menschen in unvergesslichen Situationen begleitet. Wie diese glücklichen Umstände alle zusammenspielen konnten, weiß ich ehrlich gesagt nicht. In einzigartiger Weise haben sie sich alle zusammengefügt – *dem Zufall sei Dank.*

6 Literaturverzeichnis

- Anderson, A. E.; Ellis, B. J. & Weiss, J. A. (2007): *Verification, validation and sensitivity studies in computational biomechanics*. In: Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering 10 (3), S. 171–184.
- Anderson, A. E.; Peters, C. L.; Tuttle, B. D. & Weiss, J. A. (2005): *Subject-Specific Finite Element Model of the Pelvis*. In: Journal of Biomechanical Engineering 127 (3), S. 364.
- Arampatzis, A.; Karamanidis, K. & Albracht, K. (2007): *Adaptational responses of the human Achilles tendon by modulation of the applied cyclic strain magnitude*. In: Journal of Experimental Biology 210 (15), S. 2743–2753.
- Aumailley, M. & Gayraud, B. (1998): *Structure and biological activity of the extracellular matrix*. In: Journal of Molecular Medicine 76 (3-4), S. 253–265.
- Banes, A. J.; Tsuzaki, M.; Hu, P.; Brigman, B.; Brown, T.; Almekinders, L.; Lawrence, W. T. & Fischer, T. (1995): *PDGF-BB, IGF-I and mechanical load stimulate DNA synthesis in avian tendon fibroblasts in vitro*. In: Journal of Biomechanics 28 (12), S. 1505–1513.
- Benetazzo, L.; Bizzego, A.; Caro, R. de; Frigo, G.; Guidolin, D. & Stecco, C. (2011): *3D reconstruction of the crural and thoracolumbar fasciae*. In: Surgical and Radiologic Anatomy 33 (10), S. 855–862.
- Benjamin, M. (2009): *The fascia of the limbs and back - a review*. In: Journal of Anatomy 214 (1), S. 1–18.
- Benjamin, M.; Kaiser, E. & Milz, S. (2008): *Structure-function relationships in tendons: a review*. In: Journal of Anatomy 212 (3), S. 211–228.
- Benjamin, M. & Ralphs, J. (1997): *Tendons and ligaments-an overview*. In: Histology and histopathology 12 (4), S. 1135–1144.
- Benjamin, M. & Ralphs, J. (2000): *The cell and developmental biology of tendons and ligaments*. In: International Review of Cytology 196, S. 85–130.
- Birk, D. E. & Zychband, E. (1994): *Assembly of the tendon extracellular matrix during development*. In: Journal of Anatomy 184 (3), S. 457–463.
- Böcher, W. (1992): *Natur, Wissenschaft und Ganzheit*. Opladen: Westdeutscher Verlag.
- Bohm, S.; Mersmann, F.; Tettke, M.; Kraft, M. & Arampatzis, A. (2014): *Human Achilles tendon plasticity in response to cyclic strain: Effect of rate and duration*. In: Journal of Experimental Biology 217 (22), S. 4010–4017.
- Bonewald, L. F. & Johnson, M. L. (2008): *Osteocytes, mechanosensing and Wnt signaling*. In: Bone 42 (4), S. 606–615.
- Burger, E. H. & Klein-Nulend, J. (1999): *Mechanotransduction in bone - Role of the lacuno-canalicular network*. In: FASEB Journal 13 (8 SUPPL), S. S101-S112.
- Chalmers, A. F. (1999): *Grenzen der Wissenschaft*. Berlin, Heidelberg, New York, Barcelona, Hongkong, London, Mailand, Paris, Singapur, Tokio: Springer.
- Chalmers, A. F. (2007): *Wege der Wissenschaft*, 6., verb. Aufl. Berlin [u.a.]: Springer.
- Chiquet, M.; Renedo, A. S.; Huber, F. & Flück, M. (2003): *How do fibroblasts translate mechanical signals into changes in extracellular matrix production?* In: Matrix Biology 22 (1), S. 73–80.

- Cowin, S. C. & Doty, S. B. (2007): *Tissue Mechanics*. New York, NY: Springer.
- Cukierman, E.; Pankov, R. & Yamada, K. M. (2002): *Cell interactions with three-dimensional matrices*. In: *Current Opinion in Cell Biology* 14 (5), S. 633–640.
- Dan, L.; Chua, C.-K. & Leong, K.-F. (2010): *Fibroblast response to interstitial flow: A state-of-the-art review*. In: *Biotechnology and Bioengineering* 107 (1), S. 1–10.
- Dickinson, M. H.; Farley, C. T.; Full, R. J.; Koehl, M. A.; Kram, R. & Lehman, S. (2000): *How animals move: an integrative view*. In: *Science* 288 (5463), S. 100–106.
- Dobzhansky, T. (1964): *Biology, Molecular and Organismic*. In: *American Zoologist* 4 (4), S. 443–452.
- Duance, V. C.; Restall, D. J.; Beard, H.; Bourne, F. J. & Bailey, A. J. (1977): *The location of three collagen types in skeletal muscle*. In: *FEBS Letters* 79 (2), S. 248–252.
- Eastwood, M.; McGrouther, D. A. & Brown, R. A. (1998): *Fibroblast responses to mechanical forces*. In: *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine* 212 (2), S. 85–92.
- Eichenseer, P. H.; Sybert, D. R. & Cotton, J. R. (2011): *A finite element analysis of sacroiliac joint ligaments in response to different loading conditions*. In: *Spine* 36 (22), S. E1446–E1452.
- Eng, C. M.; Arnold, A. S.; Lieberman, D. E. & Biewener, A. A. (2015): *The capacity of the human iliotibial band to store elastic energy during running*. In: *Journal of Biomechanics* 48 (12), S. 3341–3348.
- Ernstberger, M.; Boeswetter, P.; Baselt, T.; Ebert, F.; Basan, F.; Steinke, H.; Hammer, N.; Grunert, R. & Hartmann, P. (2013): *Spectrophotometric measurements of human tissues for the detection of subjacent blood vessels in an endonasal endoscopic surgical approach*. In: *Journal of Biophotonics* 6 (4), S. 310–313.
- Ernstberger, M.; Sichting, F.; Baselt, T.; Hartmann, P.; Aust, G. & Hammer, N. (2013): *Combined spectrophotometry and tensile measurements of human connective tissues: potentials and limitations*. In: *Journal of Biomedical Optics* 18 (6), S. 60506.
- Focus Online (2013): *Verletzer Bayern-Star: Darum verzichtet Badstuber auf das Kreuzband eines Toten*. [online]. http://www.focus.de/sport/fussball/bundesliga1/verletzter-bayern-star-badstuber-wollte-nicht-das-kreuzband-eines-toten_id_3444403.html (zuletzt geprüft am 21.01.2016).
- Franchi, M.; Tirirè, A.; Quaranta, M.; Orsini, E. & Ottani, V. (2007): *Collagen structure of tendon relates to function*. In: *The Scientific World Journal* 7, S. 404–420.
- Fung, Y.-C. (1993): *Biomechanics*, Second edition. New York, NY: Springer New York.
- Grinnell, F. (2003): *Fibroblast biology in three-dimensional collagen matrices*. In: *Trends in Cell Biology* 13 (5), S. 264–269.
- Gumbiner, B. (1995): *Cell-to-cell contact and extracellular matrix*. In: *Current Opinion in Cell Biology* 7 (5), S. 615–618.
- Hammer, N.; Huster, D.; Fritsch, S.; Hädrich, C.; Koch, H.; Schmidt, P.; Sichting, F.; Wagner, M. F.-X. & Boldt, A. (2014): *Do cells contribute to tendon and ligament biomechanics?* In: *PloS one* 9 (8), S. e105037.

- Hammer, N.; Lingslebe, U.; Aust, G.; Milani, T. L.; Hädrich, C. & Steinke, H. (2012): *Ultimate stress and age-dependent deformation characteristics of the iliotibial tract*. In: Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials 16, S. 81–86.
- Hammer, N.; Steinke, H.; Böhme, J.; Stadler, J.; Josten, C. & Spaniel-Borowski, K. (2010): *Description of the iliolumbar ligament for computer-assisted reconstruction*. In: Annals of Anatomy 192 (3), S. 162–167.
- Hammer, N.; Steinke, H.; Slowik, V.; Josten, C.; Stadler, J.; Böhme, J. & Spaniel-Borowski, K. (2009): *The sacrotuberous and the sacrospinous ligament - a virtual reconstruction*. In: Annals of Anatomy 191 (4), S. 417–425.
- Hentz, V. R.; Watt, A. J.; Desai, S. S. & Curtin, C. (2012): *Advances in the management of Dupuytren disease: collagenase*. In: Hand Clinics 28 (4), S. 551–563.
- Herbert, A.; Jones, G. L.; Ingham, E. & Fisher, J. (2015): *A biomechanical characterisation of acellular porcine super flexor tendons for use in anterior cruciate ligament replacement: Investigation into the effects of fat reduction and bioburden reduction bioprocesses*. In: Journal of Biomechanics 48 (1), S. 22–29.
- Hukins, D. W. & Aspden, R. M. (1985): *Composition and properties of connective tissues*. In: Trends in Biochemical Sciences 10 (7), S. 260–264.
- Indahl, A.; Kaigle, A.; Reikerås, O. & Holm, S. (1995): *Electromyographic response of the porcine multifidus musculature after nerve stimulation*. In: Spine 20 (24), S. 2652–2658.
- Jackson, H. C.; Winkelmann, R. K. & Bickel, W. H. (1966): *Nerve endings in the human lumbar spinal column and related structures*. In: Journal of Bone and Joint Surgery - Series A 48 (7), S. 1272–1281.
- Jiang, H. & Grinnell, F. (2005): *Cell-matrix entanglement and mechanical anchorage of fibroblasts in three-dimensional collagen matrices*. In: Molecular Biology of the Cell 16 (11), S. 5070–5076.
- Kannus, P. (2000): *Structure of the tendon connective tissue*. In: Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports 10 (6), S. 312–320.
- Kapreli, E.; Athanasopoulos, S.; Gliatis, J.; Papathanasiou, M.; Peeters, R.; Strimpakos, N.; van Hecke, P.; Gouliamos, A. & Sunaert, S. (2009): *Anterior cruciate ligament deficiency causes brain plasticity: A functional MRI study*. In: American Journal of Sports Medicine 37 (12), S. 2419–2426.
- Kjær, M.; Langberg, H.; Heinemeier, K.; Bayer, M. L.; Hansen, M.; Holm, L.; Doessing, S.; Kongsgaard, M.; Krogsgaard & Magnusson, S. P. (2009): *From mechanical loading to collagen synthesis, structural changes and function in human tendon*. In: Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports 19 (4), S. 500–510.
- Klein-Nulend, J.; Bakker, A. D.; Bacabac, R. G.; Vatsa, A. & Weinbaum, S. (2013): *Mechanosensation and transduction in osteocytes*. In: Bone 54 (2), S. 182–190.
- Koch, H.; Graneist, C.; Emmrich, F.; Till, H.; Metzger, R.; Aupperle, H.; Schierle, K.; Sack, U. & Boldt, A. (2012): *Xenogenic esophagus scaffolds fixed with several agents: comparative in vivo study of rejection and inflammation*. In: Journal of Biomedicine & Biotechnology 2012, S. 948320.

- Kong, Q. & Vazquez, M. (2009): *Flow-induced shear stresses increase the number of cell-cell contacts within extracellular matrix*. In: Journal of Biomedical Materials Research - Part A 89 (4), S. 968–979.
- Krause, R.; Schmidt, M. & Schaible, H.-G. (1992): *Sensory innervation of the anterior cruciate ligament. An electrophysiological study of the response properties of single identified mechanoreceptors in the cat*. In: Journal of Bone and Joint Surgery - Series A 74 (3), S. 390–397.
- Kummer, B. (2005): *Biomechanik*. Köln: Deutscher Ärzteverlag.
- Langberg, H.; Rosendal, L. & Kjær, M. (2001): *Training-induced changes in peritendinous type I collagen turnover determined by microdialysis in humans*. In: Journal of Physiology 534 (1), S. 297–302.
- Lange, B. & Vejdělek, Z. J. (1980): *Photometrische Analyse*, 1. Aufl. Weinheim, Deerfield Beach (Fla.), Basel: Verlag Chemie.
- Langevin, H. M. (2006): *Connective tissue: A body-wide signaling network?* In: Medical Hypotheses 66 (6), S. 1074–1077.
- Langevin, H. M.; Cornbrooks, C. J. & Taatjes, D. J. (2004): *Fibroblasts form a body-wide cellular network*. In: Histochemistry and Cell Biology 122 (1), S. 7–15.
- Langevin, H. M.; Bouffard, N. A.; Badger, G. J.; Churchill, D. L. & Howe, A. K. (2006): *Subcutaneous tissue fibroblast cytoskeletal remodeling induced by acupuncture: Evidence for a mechanotransduction-based mechanism*. In: Journal of Cellular Physiology 207 (3), S. 767–774.
- Lapiere, C. M.; Nusgens, B. & Pierard, G. E. (1977): *Interaction between collagen type I and type III in conditioning bundles organization*. In: Connective Tissue Research 5 (1), S. 21–29.
- Li, Z.-D.; Zou, D.-H.; Liu, N.-G.; Huang, P. & Chen, Y.-J. (2010): *The finite element modeling of human pelvis and its application in medicolegal expertise*. In: Journal of Forensic Medicine 26 (6), S. 406–412.
- Markolf, K. L.; Mensch, J. S. & Amstutz, H. C. (1976): *Stiffness and laxity of the knee: the contributions of the supporting structures. A quantitative in vitro study*. In: Journal of Bone and Joint Surgery - Series A 58 (5), S. 583–594.
- McAnulty, R. J. (2007): *Fibroblasts and myofibroblasts: their source, function and role in disease*. In: The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 39 (4), S. 666–671.
- McKeon, P. O.; Hertel, J.; Bramble, D. & Davis, I. (2015): *The foot core system: a new paradigm for understanding intrinsic foot muscle function*. In: British Journal of Sports Medicine 49 (5), S. 290.
- Michna, H. & Hartmann, G. (1989): *Adaptation of tendon collagen to exercise*. In: International Orthopaedics 13 (3), S. 161–165.
- Myers, T.W. (2010): *Anatomy Trains: Myofasziale Leitbahnen für Manual- und Bewegungstherapeuten*. München: Urban und Fischer.

- Natali, A. N.; Fontanella, C. G.; Carniel, E. L. & Young, M. (2011): *Biomechanical behaviour of heel pad tissue: experimental testing, constitutive formulation, and numerical modelling*. In: Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers. Part H, Journal of Engineering in Medicine 225 (5), S. 449–459.
- Noble, J. E. (2014): *Quantification of protein concentration using UV absorbance and Coomassie dyes*. In: Methods in Enzymology 536, S. 17–26.
- Oberkampf, W. L.; Trucano, T. G. & Hirsch, C. (2004): *Verification, validation, and predictive capability in computational engineering and physics*. In: Applied Mechanics Reviews 57 (5), S. 345.
- Palmer, I. (1938): *On the injuries to the ligaments of the knee joint*. In: Acta Chirurgica Scandinavica (Suppl 53).
- Palmer, I. (1958): *Pathophysiology of the medical ligament of the knee joint*. In: Acta Chirurgica Scandinavica 115 (4), S. 312–318.
- Panjabi, M. M. (2006): *A hypothesis of chronic back pain: ligament subfailure injuries lead to muscle control dysfunction*. In: European spine journal : official publication of the European Spine Society, the European Spinal Deformity Society, and the European Section of the Cervical Spine Research Society 15 (5), S. 668–676.
- Partridge, E. J. (1924): *Joints: The Limitation of their Range of Movement, and an Explanation of Certain Surgical Conditions*. In: Journal of Anatomy 58 (Pt 4), S. 346–354.
- Pauwels, F. (1960): *Eine neue Theorie über den Einfluß mechanischer Reize auf die Differenzierung der Stützgewebe*. In: Zeitschrift für Anatomie und Entwicklungsgeschichte 121 (6), S. 478–515.
- Payr, E. (1900): *Der heutige Stand der Gelenkchirurgie*. In: Langenbecks Archiv für klinische Chirurgie 67 (148), S. 404–451.
- Pel, J.; Spoor, C. W.; Goossens, R. & Pool-Goudzwaard, A. L. (2008): *Biomechanical model study of pelvic belt influence on muscle and ligament forces*. In: Journal of Biomechanics 41 (9), S. 1878–1884.
- Petersen, W.; Hohmann, G.; Pufe, T.; Tsokos, M.; Zantop, T.; Paulsen, F. & Tillmann, B. (2004): *Structure of the human tibialis posterior tendon*. In: Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery 124 (4), S. 237–242.
- Petrie, S.; Collins, J.; Solomonow, M.; Wink, C. & Chuinard, R. (1997): *Mechanoreceptors in the palmar wrist ligaments*. In: Journal of Bone and Joint Surgery - Series B 79 (3), S. 494–496.
- Petrie, S.; Collins, J. G.; Solomonow, M.; Wink, C.; Chuinard, R. & D'Ambrosia, R. (1998): *Mechanoreceptors in the human elbow ligaments*. In: Journal of Hand Surgery 23 (3), S. 512–518.
- Raunest, J.; Sager, M. & Bürgener, E. (1996): *Proprioceptive mechanisms in the cruciate ligaments: An electromyographic study on reflex activity in the thigh muscles*. In: Journal of Trauma - Injury, Infection and Critical Care 41 (3), S. 488–493.
- Rutkowski, J. M. & Swartz, M. A. (2007): *A driving force for change: interstitial flow as a morphoregulator*. In: Trends in Cell Biology 17 (1), S. 44–50.

- Salomon, D.; Saurat, J.-H. & Meda, P. (1988): *Cell-to-cell communication within intact human skin*. In: Journal of Clinical Investigation 82 (1), S. 248–254.
- Schleip, R. (2003): *Fascial plasticity – a new neurobiological explanation - Part 1*. In: Journal of Bodywork and Movement Therapies 7 (1), S. 11–19.
- Schleip, R.; Findley, T. W.; Chaitow, L. & Huijing, P. A. (2012): *Fascia*. Edinburgh, New York: Churchill Livingstone/Elsevier.
- Schleip, R.; Jäger, H. & Klingler, W. (2012): *What is 'fascia'? A review of different nomenclatures*. In: Journal of Bodywork and Movement Therapies 16 (4), S. 496–502.
- Shobeiri, A. S.; Elkins, T. E. & Thomas, K. A. (2000): *Comparison of Sacrospinous Ligament, Sacrotuberous Ligament, and O Polypropylene Suture Tensile Strength*. In: Female Pelvic Medicine & Reconstructive Surgery 6 (5), S. 261–267.
- Sichting, F.; Rossol, J.; Soisson, O.; Klima, S.; Milani, T. & Hammer, N. (2014): *Pelvic belt effects on sacroiliac joint ligaments: a computational approach to understand therapeutic effects of pelvic belts*. In: Pain Physician 17 (1), S. 43–51.
- Sichting, F.; Steinke, H.; Wagner, M. F.-X.; Fritsch, S.; Hädrich, C. & Hammer, N. (2015): *Quantification of material slippage in the iliotibial tract when applying the partial plastination clamping technique*. In: Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials 49, S. 112–117.
- Skoglund, S. (1956): *Anatomical and physiological studies of knee joint innervation in the cat*. In: Acta Physiologica Scandinavica. Supplementum 36 (124), S. 1–101.
- Snedeker, J. G. & Gautieri, A. (2014): *The role of collagen crosslinks in ageing and diabetes-the good, the bad, and the ugly*. In: Muscles, ligaments and tendons journal 4 (3), S. 303.
- Soisson, O.; Lube, J.; Germano, A.; Hammer, K.-H.; Josten, C.; Sichting, F.; Winkler, D.; Milani, T. L. & Hammer, N. (2015): *Pelvic belt effects on pelvic morphometry, muscle activity and body balance in patients with sacroiliac joint dysfunction*. In: PloS one 10 (3), S. e0116739.
- Solomonow, M.; Baratta, R.; Zhou, B. H.; Shoji, H.; Bose, W.; Beck, C. & D'Ambrosia, R. (1987): *The synergistic action of the anterior cruciate ligament and thigh muscles in maintaining joint stability*. In: The American Journal of Sports Medicine 15 (3), S. 207–213.
- Solomonow, M.; Guanche, C.; Wink, C.; Knatt, T.; Baratta, R. V. & Lu, Y. (1996): *Mechanoreceptors and reflex arc in the feline shoulder*. In: Journal of Shoulder and Elbow Surgery 5 (2 Pt 1), S. 139–146.
- Solomonow, M. & Krogsgaard, M. (2001): *Sensorimotor control of knee stability. A review*. In: Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports 11 (2), S. 64–80.
- Solomonow, M.; Zhou, B. H.; Lu, Y. & King, K. B. (2012): *Acute repetitive lumbar syndrome: a multi-component insight into the disorder*. In: Journal of Bodywork and Movement Therapies 16 (2), S. 134–147.
- Stecco, C.; Corradin, M.; Macchi, V.; Morra, A.; Porzionato, A.; Biz, C. & Caro, R. de (2013): *Plantar fascia anatomy and its relationship with Achilles tendon and paratenon*. In: Journal of Anatomy 223 (6), S. 665–676.

- Stecco, C.; Macchi, V.; Porzionato, A.; Morra, A.; Parenti, A.; Stecco, A.; Delmas, V. & Caro, R. de (2010): *The ankle retinacula: morphological evidence of the proprioceptive role of the fascial system*. In: Cells, Tissues, Organs 192 (3), S. 200–210.
- Stecco, C.; Gagey, O.; Belloni, A.; Pozzuoli, A.; Porzionato, A.; Macchi, V.; Aldegheri, R.; Caro, R. de & Delmas, V. (2007): *Anatomy of the deep fascia of the upper limb. Second part: study of innervation*. In: Morphologie 91 (292), S. 38–43.
- Stecco, C. & Hammer, W. I. (2015): *Functional atlas of the human fascial system*. [Edinburgh]: Churchill Livingstone.
- Stecco, C. & Schleip, R. (2015): *A fascia and the fascial system*. In: Journal of Bodywork and Movement Therapies (in Press).
- Steinke, H.; Hammer, N.; Slowik, V.; Stadler, J.; Josten, C.; Böhme, J. & Spänel-Borowski, K. (2010): *Novel insights into the sacroiliac joint ligaments*. In: Spine 35 (3), S. 257–263.
- Steinke, H.; Lingslebe, U.; Böhme, J.; Slowik, V.; Shim, V.; Hädrich, C. & Hammer, N. (2012): *Deformation behavior of the iliotibial tract under different states of fixation*. In: Medical Engineering & Physics 34 (9), S. 1221–1227.
- Stener, B. & Petersen, I. (1962): *Electromyographic investigation of reflex effects upon effects upon stretching the partially ruptured medial collateral ligament of the knee joint*. In: Acta Chirurgica Scandinavica 124, S. 396–411.
- Stevens-Tuttle, D.; Fox, J.; Bouffard, N. A.; Henry, S.; Wu, J. & Langevin, H. M. (2009): *Perimuscular Fascia Remodeling in a Porcine Movement Restriction Model Relevant to Human Low Back Pain*. In: Journal of Bodywork and Movement Therapies 13 (1), S. 91.
- Stilwell, D. L. (1957): *Regional variations in the innervation of deep fasciae and aponeuroses*. In: The Anatomical Record 127 (4), S. 635–653.
- Sturesson, B.; Uden, A. & Vleeming, A. (2000): *A radiostereometric analysis of movements of the sacroiliac joints during the standing hip flexion test*. In: Spine 25 (3), S. 364–368.
- Sturesson, B.; Uden, A. & Vleeming, A. (2000): *A radiostereometric analysis of the movements of the sacroiliac joints in the reciprocal straddle position*. In: Spine 25 (2), S. 214–217.
- Sturesson, B.; Udén, A. & Onsten, I. (1999): *Can an external frame fixation reduce the movements in the sacroiliac joint? A radiostereometric analysis of 10 patients*. In: Acta orthopaedica Scandinavica 70 (1), S. 42–46.
- Suominen, H.; Kiiskinen, A. & Heikkinen, E. (1980): *Effects of physical training on metabolism of connective tissues in young mice*. In: Acta Physiologica Scandinavica 108 (1), S. 17–22.
- Telfer, S.; Erdemir, A.; Woodburn, J. & Cavanagh, P. R. (2015): *Simplified versus geometrically accurate models of forefoot anatomy to predict plantar pressures: A finite element study*. In: Journal of Biomechanics (in Press).
- Tipton, C. M.; Vailas, A. C. & Matthes, R. D. (1986): *Experimental studies on the influences of physical activity on ligaments, tendons and joints: A brief review*. In: Acta Medica Scandinavica 220 (SUPPL. 711), S. 157–168.

- Tsubomura, H.; Yamamoto, N.; Matsuo, N. & Okade, Y. (1980): *The visible absorption spectrum of water*. In: Proceedings of the Japan Academy. Ser. B: Physical and Biological Sciences 56 (7), S. 403–407.
- van Berg, F. d. & Cabri, J. (2003): *Das Bindegewebe des Bewegungsapparates verstehen und beeinflussen*, 2., korr. Aufl. Stuttgart [u.a.]: Thieme.
- van der Wal, J. C. (2012): *Proprioception*, S. 81–87. In: Schleip, Robert; Findley, Thomas W.; Chaitow, Leon; Huijing, Peter A.: *Fascia*. Churchill Livingstone/Elsevier, Edinburgh, New York.
- van der Wal, J. (2015): *Van Der Wal's response to Stecco's fascial nomenclature editorial: some functional considerations as to nomenclature in the domain of the fascia and connective tissue*. In: Journal of Bodywork and Movement Therapies 19 (2), S. 304–309.
- Viceconti, M. (2015): *Biomechanics-based in silico medicine: The manifesto of a new science*. In: Journal of Biomechanics 48 (2), S. 193–194.
- Viceconti, M.; Olsen, S.; Nolte, L.-P. & Burton, K. (2005): *Extracting clinically relevant data from finite element simulations*. In: Clinical Biomechanics 20 (5), S. 451–454.
- Vleeming, A.; Mooney, V. & Stoeckart, R. (2007): *Movement, stability & lumbopelvic pain*, 2nd ed. Edinburgh, New York: Churchill Livingstone Elsevier.
- Vleeming, A.; Pool-Goudzwaard, A. L.; Stoeckart, R.; van Wingerden, J.-P. & Snijders, C. J. (1995): *The Posterior Layer of the Thoracolumbar Fascia| Its Function in Load Transfer From Spine to Legs*. In: Spine 20 (7), S. 753–758.
- Waggett, A. D.; Ralphs, J. R.; Kwan, A. P.; Woodnutt, D. & Benjamin, M. (1998): *Characterization of collagens and proteoglycans at the insertion of the human Achilles tendon*. In: Matrix Biology 16 (8), S. 457–470.
- Wang, J. H.-C. & Thampatty, B. P. (2006): *An introductory review of cell mechanobiology*. In: Biomechanics and Modeling in Mechanobiology 5 (1), S. 1–16.
- Wang, J.-C. (2006): *Mechanobiology of tendon*. In: Journal of Biomechanics 39 (9), S. 1563–1582.
- Wang, J.-C.; Jia, F.; Yang, G.; Yang, S.; Campbell, B. H.; Stone, D. & Woo, S.-Y. (2003): *Cyclic mechanical stretching of human tendon fibroblasts increases the production of prostaglandin E2 and levels of cyclooxygenase expression: A novel in vitro model study*. In: Connective Tissue Research 44 (3-4), S. 128–133.
- Yang, G.; Im, H.-J. & Wang, J.-C. (2005): *Repetitive mechanical stretching modulates IL-1 β induced COX-2, MMP-1 expression, and PGE2 production in human patellar tendon fibroblasts*. In: Gene 363 (1-2), S. 166–172.
- Yahia, L. H. & Newman, N. (1991): *Innervation of spinal ligaments of patients with disc herniation. An immunohistochemical study*. In: Pathology Research and Practice 187 (8), S. 936–938.
- Yahia, L. H.; Newman, N. & Rivard, C.-H. (1988): *Neurohistology of lumbar spine ligaments*. In: Acta Orthopaedica 59 (5), S. 508–512.

7 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Faseriges Bindegewebe gehört neben dem Epithelgewebe, Muskelgewebe und Nervengewebe zu den Hauptgewebearten. Es differenziert sich nach genau definierten Umweltreizen, beginnend bei einer embryonalen Stammzelle. (Eigene Darstellung, in Anlehnung an Myers, 2010)	6
Abbildung 2: Fibroblasten steuern den Auf-, Um- und Abbau faseriger Bindegewebe. Synthetisiert werden die Hauptbestandteile der extrazellulären Matrix: Tropokollagen, Elastin und Proteoglykane. (Eigene Darstellung, in Anlehnung an van Berg & Cabri, 2003)	8
Abbildung 3: Der strukturelle Aufbau der kollagenen Bestandteile bestimmt maßgeblich die späteren mechanischen Eigenschaften des faserigen Bindegewebes. (Eigene Darstellung, in Anlehnung an van Berg & Cabri, 2003).....	10
Abbildung 4: Einteilung faseriger Bindegewebe in lockeres und straffes Bindegewebe. Trotz ihrer Verschiedenartigkeit bestehen alle faserigen Bindegewebe aus den gleichen Grundbausteinen, welche von den Fibroblasten synthetisiert werden. (Eigene Darstellung) 12	
Abbildung 5: Das straffe Bindegewebe lässt sich in gerichtetes und ungerichtetes Bindegewebe unterteilen. Es folgt eine weitere Unterteilung des gerichteten Bindegewebes in parallelfaseriges und multidirektionales Bindegewebe. Die in dieser Arbeit folgenden eigenen Untersuchungen beziehen sich nahezu ausnahmslos auf straffes, gerichtetes, parallelfaseriges Bindegewebe. (Eigene Darstellung).....	13
Abbildung 6: Das Hypothesenmodell zur Entstehung chronischer Schmerzzustände nach Panjabi (2006). Grundlage des Modells ist die Einbeziehung eines aktiven Subsystems (Muskulatur), eines kontrollierenden Subsystems (Mechanorezeptoren und motorisches Zentrum) und eines passiven Subsystems (faserige Bindegewebe und Knochengewebe). Es unterstreicht die Bedeutung faseriger Bindegewebe für die sensomotorische Kontrolle. (Eigene Darstellung, in Anlehnung an Panjabi, 2006)	18
Abbildung 7: Mikroskopische Betrachtung des Tractus iliotibialis mit blau eingefärbten Zellbestandteilen in den nativen Gewebeproben (a + b). Nach dem Prozess der Dezellularisierung sind keine zellulären Bestandteile sichtbar (c + d). (Darstellung aus Hammer et al., 2014)	23
Abbildung 8: Einfluss der Dezellularisierung auf die mechanischen Eigenschaften des Tractus iliotibialis. Während sich beim Elastizitätsmodul und der Streckgrenze keine Unterschiede zeigen, steigt die Dehngrenze in zellbefreiten Gewebeproben signifikant an. (Darstellung aus Hammer et al., 2014)	24
Abbildung 9: Verfahrensschritte der partiellen Plastinationsmethode. Von links oben nach rechts unten: Am Beispiel eines freipräparierten Tractus iliotibialis werden aus dem	

parallelfaserigen Bereich entlang des Faserverlaufs zwei bis drei Zugprobekörpern herausgeschnitten. Der mittlere Bereich der Proben verbleibt in seinem nativen Zustand. Die Enden der Proben werden dagegen mit Hilfe eines Epoxidharzgemischs und Kunststoffplatten plastiniert. Die plastinierten und unfixierten Bereiche der Probe lassen sich klar differenzieren. Die mittlere Länge des unfixierten Prüfbereichs beträgt 70 mm. (Darstellung aus Sighting et al., 2015)26

Abbildung 10: Beurteilung der Wirkungsweise eines Beckenkompressionsgurts auf die Bänder des Beckenrings mit Hilfe der Finite-Elemente-Analyse. Die Simulation des Zweibeinstandes ergab, dass die Kipptendenz des Beckens um die Transversalachse durch die Kompressionswirkung des Beckengurts reduziert wird. Aufgrund dessen werden auch die Lig. sacrotuberale und sacrospinale entlastet. (Darstellung aus Sighting et al., 2014)29

Abbildung 11: Ergebnisdarstellung des Transmissionsverhaltens des Tractus iliotibialis bei zyklischer Zugbelastung. Der abnehmende Grad der Transmission bei ansteigender Last (a) lässt sich über die parallelfaserige Struktur des Tractus erklären, wobei sich unter Last die einzelnen Faserbündel annähern und so die Transmission des Lichts reduzieren (b). (Darstellung aus Ernstberger et al., 2013)31

Abbildung 12: Illustrierte Darstellung des Versuchsaufbaus zur Untersuchung des Einflusses der Achillessehne und Plantarfaszie auf die mechanischen Eigenschaften des Fersenfettpolsters. Die Deformation des Fersenpolsters wurde mit Hilfe eines bildgebenden Ultraschallverfahrens aufgezeichnet (links). Der Einfluss der Achillessehne wurde mit Hilfe einer Stellschraube variiert (Mitte) und so die Deformation des Fersenfettpolsters in Abhängigkeit der Achillessehnenanspannung gemessen (rechts). (Eigene Darstellung)33

Abbildung 13: Sinnbild der aktuellen Betrachtungsweise faserige Bindegewebe? Bei der Frage nach der funktionellen Bedeutung faseriger Bindegewebe werden häufig nur die einzelnen Bestandteile betrachtet. Dabei lässt sich auch der Geschmack eines Kuchens nicht allein durch seine Zutaten erklären. (Eigene Darstellung)42

8 Anlagen

Diese Arbeit enthält **7 Anlagen**, bestehend aus den in Kapitel 3 beschriebenen **Publikationen** sowie einem **Wissenschaftlichen Lebenslauf** und einer **Liste der eigenen Veröffentlichungen**.

Für diese Arbeit verwendete Publikationen

Hammer; Huster; Fritsch; Hädrich; Koch; Schmidt; **Sichting**; Wagner & Boldt (2014): Do cells contribute to tendon and ligament biomechanics? In: PloS one 9 (8), e105037.

Ernstberger; **Sichting**; Baselt; Hartmann; Aust & Hammer (2013): Combined spectrophotometry and tensile measurements of human connective tissues: potentials and limitations. In: Journal of Biomedical Optics 18 (6), 60506.

Sichting; Steinke; Wagner; Fritsch; Hädrich & Hammer (2015): Quantification of material slippage in the iliotibial tract when applying the partial plastination clamping technique. In: Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials 49, 112–117.

Sichting; Rossol; Soisson; Klima; Milani & Hammer (2014): Pelvic belt effects on sacroiliac joint ligaments: a computational approach to understand therapeutic effects of pelvic belts. In: Pain Physician 17 (1), 43–51.

Sichting; Hammer & Milani (in submission): The heel pad paradox revisited: observations on the functional relationship between plantar heel pad, Achilles tendon and plantar fascia. Submitted to: Journal of Biomechanics (status 22.12.2015: major revision)



Do Cells Contribute to Tendon and Ligament Biomechanics?

Niels Hammer^{1*}, Daniel Huster², Sebastian Fritsch³, Carsten Hädrich⁴, Holger Koch⁵, Peter Schmidt², Freddy Sichting⁶, Martin Franz-Xaver Wagner³, Andreas Boldt^{5,7}

1 Institute of Anatomy, University of Leipzig, Faculty of Medicine, Leipzig, Germany, **2** Institute of Medical Physics and Biophysics, University of Leipzig, Faculty of Medicine, Leipzig, Germany, **3** Institute of Materials Science and Engineering, Chemnitz University of Technology, Chemnitz, Germany, **4** Institute of Forensic Medicine, University of Leipzig, Faculty of Medicine, Leipzig, Germany, **5** Translational Centre for Regenerative Medicine, University of Leipzig, Faculty of Medicine, Leipzig, Germany, **6** Institute of Sport Science, Department Human Locomotion, Chemnitz University of Technology, Chemnitz, Germany, **7** Institute of Clinical Immunology, University of Leipzig, Faculty of Medicine, Leipzig, Germany

Abstract

Introduction: Acellular scaffolds are increasingly used for the surgical repair of tendon injury and ligament tears. Despite this increased use, very little data exist directly comparing acellular scaffolds and their native counterparts. Such a comparison would help establish the effectiveness of the acellularization procedure of human tissues. Furthermore, such a comparison would help estimate the influence of cells in ligament and tendon stability and give insight into the effects of acellularization on collagen.

Material and Methods: Eighteen human iliotibial tract samples were obtained from nine body donors. Nine samples were acellularized with sodium dodecyl sulphate (SDS), while nine counterparts from the same donors remained in the native condition. The ends of all samples were plastinated to minimize material slippage. Their water content was adjusted to 69%, using the osmotic stress technique to exclude water content-related alterations of the mechanical properties. Uniaxial tensile testing was performed to obtain the elastic modulus, ultimate stress and maximum strain. The effectiveness of the acellularization procedure was histologically verified by means of a DNA assay.

Results: The histology samples showed a complete removal of the cells, an extensive, yet incomplete removal of the DNA content and alterations to the extracellular collagen. Tensile properties of the tract samples such as elastic modulus and ultimate stress were unaffected by acellularization with the exception of maximum strain.

Discussion: The data indicate that cells influence the mechanical properties of ligaments and tendons in vitro to a negligible extent. Moreover, acellularization with SDS alters material properties to a minor extent, indicating that this method provides a biomechanical match in ligament and tendon reconstruction. However, the given protocol insufficiently removes DNA. This may increase the potential for transplant rejection when acellular tract scaffolds are used in soft tissue repair. Further research will help optimize the SDS-protocol for clinical application.

Citation: Hammer N, Huster D, Fritsch S, Hädrich C, Koch H, et al. (2014) Do Cells Contribute to Tendon and Ligament Biomechanics? PLoS ONE 9(8): e105037. doi:10.1371/journal.pone.0105037

Editor: Sanjoy Bhattacharya, Bascom Palmer Eye Institute, University of Miami School of Medicine, United States of America

Received: February 5, 2014; **Accepted:** July 18, 2014; **Published:** August 15, 2014

Copyright: © 2014 Hammer et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Funding: Parts of the work presented in this paper were supported by the German Federal Ministry of Education and Research (BMBF number 1315883, www.bmbf.de). The authors Holger Koch and Andreas Boldt were financed via the German Federal Ministry of Education and Research. In both, they were involved in data collection, analysis and in the preparation of the manuscript. This work was furthermore made possible by the budgetary resources of the Institute of Anatomy, University of Leipzig. The authors declare that there are no competing interests. They acknowledge support from the German Research Foundation (DFG) and Leipzig University within the program of Open Access Publishing. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

* Email: niels.hammer@medizin.uni-leipzig.de

Introduction

Acellular scaffolds are increasingly applied in soft tissue reconstruction or in the surgical treatment of musculoskeletal system injury [1–5]. The rationale behind acellularization is to provide hetero- or xenogenic tissues that cause reduced immune response [3,6]. An additional aim is to slow down physiological degradation and to enhance ingrowth of the body's own cells. For this purpose, the scaffolds are chemically cross-linked [3,7,8] or seeded with growth factors [9]. A diversity of acellular tissues is used for this purpose, such as dermis [5,10–12], pericardium

[7,13], ligaments and tendons [6,14] or small intestine submucosa [3,5,15]. These tissues mostly originate from human, bovine, caprine, equine or porcine donors [15].

In the current literature there is a variety of biomechanical and histological descriptions of acellular scaffolds using *in-vivo* [6,7,10] and *in-vitro* models [1,5,16,17]. However, many of these studies are based on small sample sizes or are associated with large measurement variations [1,7]. Most of these studies also lack standardized testing conditions [6,10,11] or sampling conditions [1,4,5]. As a consequence, the results from mechanical testing are not readily comparable. Such a comparison, however, would help

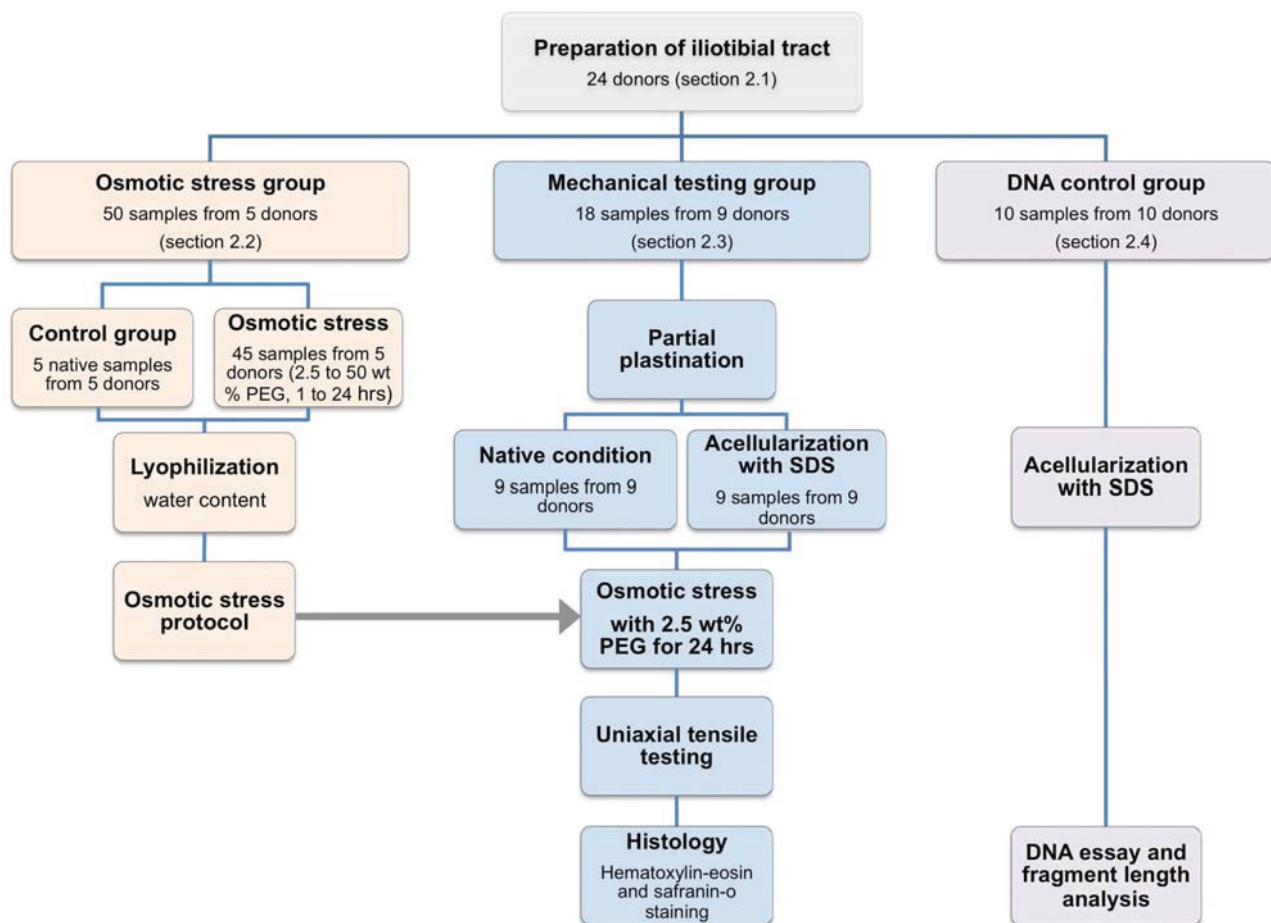


Figure 1. Summary of the study protocol and the amount of specimens that were used for the respective experiments.
doi:10.1371/journal.pone.0105037.g001

determine the suitability of the various scaffolds for the differing anatomical target sites from an anatomical point of view. No previous studies have aimed to quantify the effect of the acellularization procedure by directly comparing tissues obtained from the same human donors, at the same anatomical site, before and after acellularization. Doing so would help to gain insight into the influence of cells on connective tissue biomechanics, which is the aim of our study. Furthermore, such comparison would help to estimate the effects of the chemicals applied for acellularization on the mechanical properties of collagen tissues.

We aimed to establish a protocol for a direct comparison of the tensile properties of native samples and their acellular scaffold counterparts, obtained from the same donor and the same anatomical site. The protocol should specifically circumvent the following four sources of bias, as identified in the literature, which could potentially impact on the results of mechanical testing:

- (1) Differences in the tensile properties of related tissues originating from different species, different donors or different anatomical sites - by comparing the mechanical properties of samples obtained from the same donors and the same anatomical sites.
- (2) Lack of standardized testing conditions - by obtaining uniaxial tensile properties of tissues that are mainly loaded uniaxially.
- (3) Altered water content related to storage or acellularization [18], and its impact on the tensile properties - by using the osmotic stress technique to adjust the samples' water content.
- (4) Material slippage - by minimizing slippage using the partial plastination technique [19].

To check the validity of the protocol and gain insight into the influence of cells on the mechanical properties of collagen tissues, the following hypothesis was addressed:

Cell loss alters tensile properties of human ligaments or tendons such as the human iliotibial tract *in vitro*.

Material and Methods

1. Human iliotibial tract preparation

Twenty-four human iliotibial tract specimens were obtained from twenty-four body donors (6 females, 18 males, age 33.7 ± 16.2 years; Table S1 in File S1) during autopsy at the Institute of Forensic Medicine, University of Leipzig, Germany. The donors had no history of connective tissue disease and the tissues were removed in a fresh and chemically unfixed condition. The university's ethics committee "Ethik-Kommission an der Medizinischen Fakultät der Universität Leipzig" approved the study (protocol number 156-10-1207-2010). The ethics committee waived the need of written consent from the donors. If possible, written consent was obtained from the donors' relatives. A

longitudinal incision measuring approximately 15 cm in length was made, starting at the greater trochanter, directed to the lateral epicondylus of the respective side. Following the incision, the iliotibial tract was visualized and removed in the region of most parallel fibers. The tracts were immediately freed from surrounding tissues under constant moistening with isotonic sodium chloride solution, precooled at 3°C and shock frozen at −85°C for storage. Tract specimens of five donors were used for determining the water content in the fresh condition and for establishing a protocol that allows adjusting the water content of tract specimens after acellularization to their initial value (*osmotic stress group*). Nine tract specimens were tested mechanically in the native and the acellular condition before they were used for histology (*mechanical testing group*). The remaining ten tract specimens were used to determine the DNA content after acellularization (*DNA control group*). Figure 1 summarizes the study protocol and the amount of specimens that were used for the respective experiments.

2. Osmotic stress group: establishing an osmotic stress protocol to adjust samples' water content to their initial value

In a first step, a protocol was established for adjusting the water content in the tract samples to their initial (native) value by means of the osmotic stress technique [20,21]. For this purpose, polyethylene glycol (PEG; Rotipuran, Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Germany; molecular weight 20,000 Da) was prepared in concentrations of 2.5 wt% (0.75 MPa) to 50 wt% (9.6 MPa; [22]) in an isotonic sodium-chloride solution, buffered with 20 mM tris (hydroxymethyl aminomethane; pH = 7). Five tract specimens from five body donors (Figure 1, Table S1 in File S1) were sectioned into ten samples each. Forty-five of the samples (9 samples/donor) were packed in 42-mm dialysis membranes (Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Germany; molecular weight cut off = 6000–8000 Da), sealed at both ends and submersed in the different PEG solutions for 1, 2, 4 and 24 h at 4°C under continuous stirring of the fluid (Figure 2). After the given times, the samples were weighed, lyophilized for 48 h and again weighed to measure their water content. The remaining five samples (1 sample/donor) served as controls to determine the initial water content of the iliotibial tract in the fresh condition [21].

3. Mechanical testing group

3.1. Partial plastination of tract samples to optimize clamping in material testing. Eighteen samples (nine sample pairs) were harvested from nine tract specimens of nine donors by means of longitudinal sections made in the direction of the fibers (Figure 1; Table S1 in File S1). Sample thickness was left unaltered.

The ends of the 18 samples were freeze-substituted in acetone and primed with polyurethane resin, prepared in a ratio of 1/1/3 with RENCAST FC52 Isocyanate/FC52 Polyol/Ceramic Powder (RenShape solutions, Huntsman International LLC, Salt Lake City, USA; $YM = 2100 \text{ N/mm}^2$). The resin was reinforced with Pertinax plates (PF CP 201, Dr. Müller GmbH, Ahlhorn, Germany) to improve the stability of the plastinated parts of the tract specimens that were to be clamped in the material testing machine. Gelatin and a template were used to protect the central unfixed part of the specimen from the acetone and from the resin. After polymerization of the resin, the specimens were rinsed in 40°C water to remove the gelatin and then immediately stored in isotonic sodium-chloride solution. The central parts of the samples

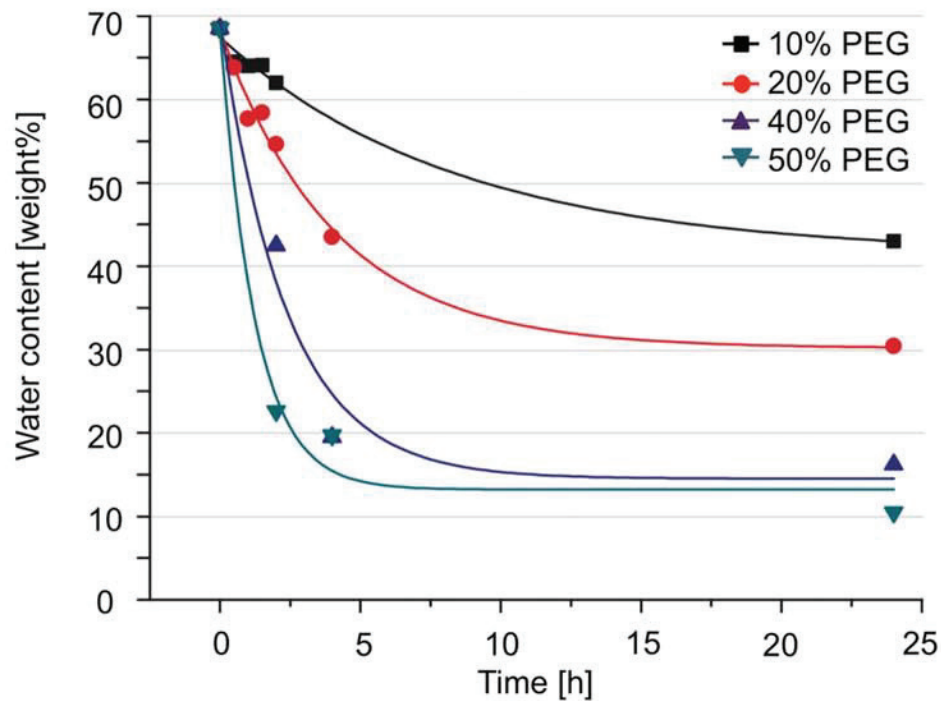
remained in the unfixed fresh condition at all times, sharply separated from the resin of the plastinated parts. The samples measured 69.7 ± 2.3 millimeters in length and ten or more millimeters in width. For more details on the partial plastination technique, please refer to [19]. One sample of each corresponding pair was again precooled and shock frozen, the other samples were subjected to acellularization.

3.2. Acellularization procedure with sodium dodecyl sulphate (SDS). The procedure of acellularization was accomplished as described previously [8]. Nine of the 18 partially plastinated samples to be used for material testing were submersed in an SDS solution (1% by volume; Roth, Karlsruhe, Germany) for seven days to remove all cellular components. The acellular scaffolds were then rinsed in distilled water for seven days. Both the SDS solution and the distilled water were exchanged once daily. After completing the rinsing, the nine partially plastinated scaffolds were precooled and shock frozen. Furthermore, ten acellular scaffold samples were forwarded to the DNA assay for comparison to their native counterparts.

3.3. Adjusting tract samples' water content with the osmotic stress technique. On the basis of the protocol established in the osmotic stress group, the osmotic stress technique was applied to adjust the water content to 69 wt% in all partially plastinated samples of the mechanical testing group (Figures 1 and 2). The corresponding sample pairs consisting of one native sample and one acellular scaffold were each packed and sealed in one dialysis membrane (Figure 3) and equilibrated in 2.5 wt% PEG solution at an osmotic pressure of 0.75 MPa for 24 h before material testing started.

3.4. Mechanical testing. Elongation of the 18 partially plastinated samples was measured with a 5 kN load cell during uniaxial tensile deformation with a Z20.0 uniaxial testing machine (Zwick GmbH & Co. KG, Ulm, Germany; Figure 4a) at a temperature of 21°C. Both the acellular samples and their native counterparts, serving as the controls, were tested in the same manner. The samples were removed from the PEG solution and the dialysis membrane immediately before material testing, subsequently mounted and then tapered in a dogbone-like shape using a template to create a minimum cross-sectional area. The smallest distance of the taper measured 10 mm in width. Initial specimen thickness was recorded with an electronic micrometer (Universal Micrometer 0–25 mm, Werkzeug-Eylert GmbH, Chemnitz, Germany; resolution 1 μm , accuracy $\pm 2 \mu\text{m}$) under a preload of 10 N. Specimens' tapered and preloaded width was recorded with an Aramis system (GOM - Gesellschaft für Optische Messtechnik mbH, Braunschweig, Germany). Figure 4b shows a partially plastinated specimen in its original dimensions and the resulting dimensions after tapering. The specimens' cross-sections were calculated on the basis of the width and thickness, presuming a rectangular shape. Prior to a final cycle until material failure, each sample was preconditioned for 20 cycles at a load range of 10–100 N and at a crosshead displacement speed of 20 mm/min. Elongation of each sample was measured by the displacement of the crosshead co-registered by the digital image correlation method (Aramis, GOM - Gesellschaft für Optische Messtechnik mbH, Braunschweig, Germany; capturing rate 4 fps). Deviating from our previous experiments [19,23], the samples were not moistened during the testing to keep the water content on the same level in all samples. The elastic modulus was determined by means of regression analysis in the most linear region of the stress-strain curve. Ultimate stress (stress at failure) was defined as the maximum stress before failure. Maximum strain was the engineering strain calculated from the ratio of elongation

Time-dependent decrease of water content related to different polyethylen glycol (PEG) concentrations



Association between polyethylen glycol (PEG) concentration and iliotibial tract water content after submersion for 24 hours

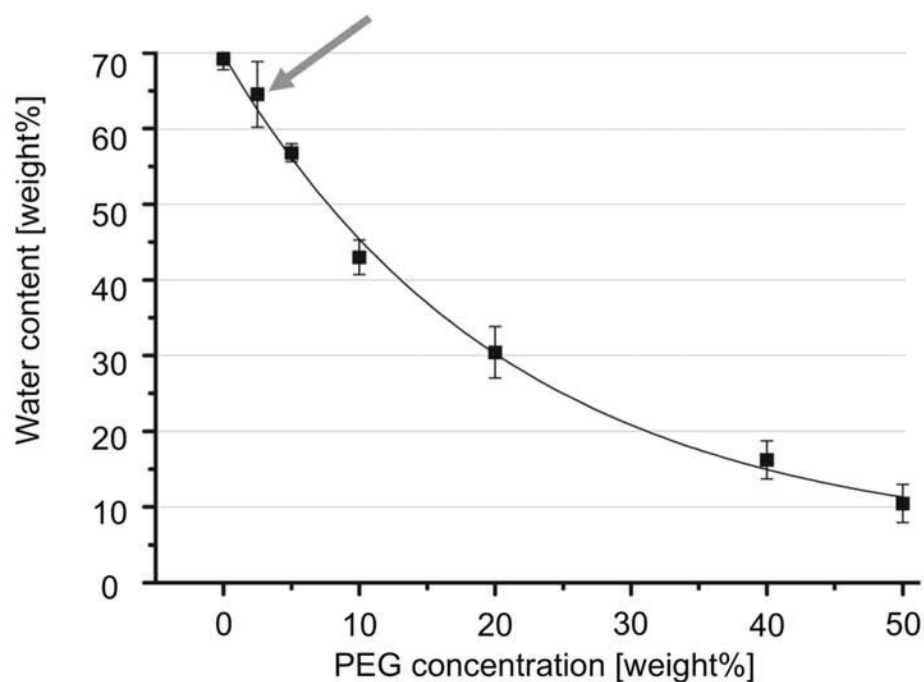


Figure 2. Time-dependent decrease of the water content as a function of the polyethylene glycol (PEG) concentrations (2a, top) and correlation between polyethylene glycol (PEG) concentration and iliotibial tract water content after submersion for 24 h (2b, bottom) are shown. Applying the osmotic stress technique to iliotibial tract specimens caused a PEG- dependent decrease of their water content. PEG concentrations of 2.5 wt% (grey arrow) were most suitable for osmotically adjusting the water content of iliotibial tract samples and their corresponding acellular scaffolds.
doi:10.1371/journal.pone.0105037.g002

immediately before material failure and the initial length of the sample.

3.5. Histology. For histological examination, the small tissue pieces were removed from the nine partially plastinated sample pairs immediately before the material testing, dehydrated in ascending ethanol series and then embedded with paraffin. Serial sections of 10 μm were stained with hematoxylin-eosin (HE) and with safranin-o staining [24]. Three investigators without prior knowledge to the allocation of the sections scanned the tissues for the presence of cell nuclei and analyzed the appearance of the extracellular collagen. To this end, at least three slices with ten randomly selected fields were investigated under 400-fold magnification from each specimen [25].

4. DNA control group: quantification of DNA removal by means of a DNA assay and qualitative fragment analysis with gel electrophoresis

Thirty samples were harvested from ten iliotibial tracts of ten donors to determine the effectiveness of the acellularization with SDS (Figure 1; Table S1 in File S1). Twenty of the samples (2 samples/donor) were acellularized with SDS as described above. After acellularization, ten of the samples (1 sample/donor) were additionally digested enzymatically for 12 h at 37°C with DNase (200 $\mu\text{g}/\text{mL}$; Sigma, Deisenhofen, Germany) in isotonic PBS, containing 50 mM MgCl_2 . Ten samples were left in the fresh condition (1 sample/donor) and served as controls.

A standard DNA assay (DNeasy Blood & Tissue Kit, Qiagen, Hilden, Germany) was used to determine DNA content of the tract specimens before acellularization, after acellularization and after acellularization and DNA digestion, as proposed by Pridgen et al. [16] and Schulze-Tanzil et al. [9]. For this purpose, small pieces of

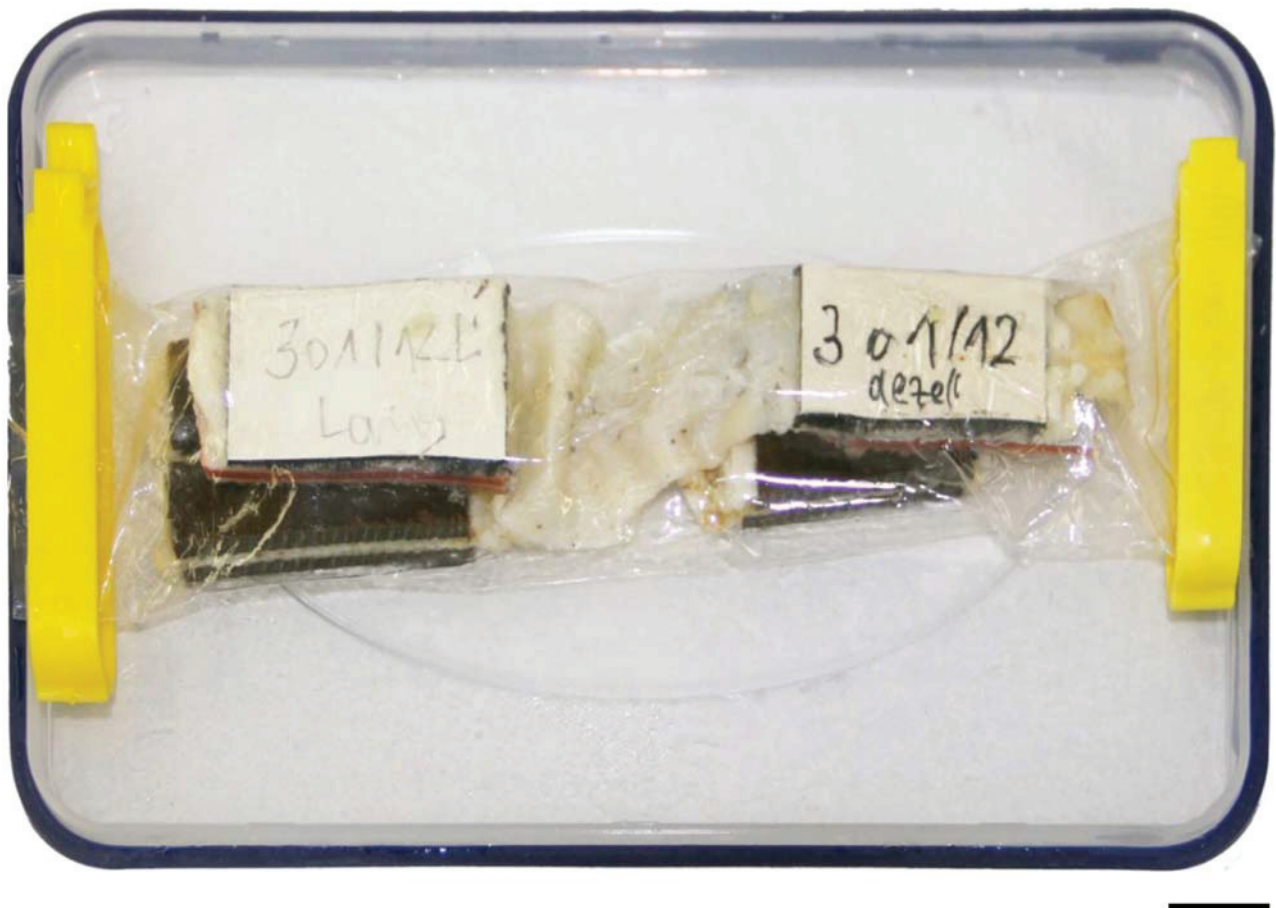


Figure 3. The osmotic stress technique was applied to partially plastinated iliotibial tract samples. Each sample pair consisting of one native tract and its corresponding acellular counterpart were submersed for 24 h in a 2.5 wt % polyethylene glycol solution before uniaxial tensile testing. Scale bar = 10 mm
doi:10.1371/journal.pone.0105037.g003

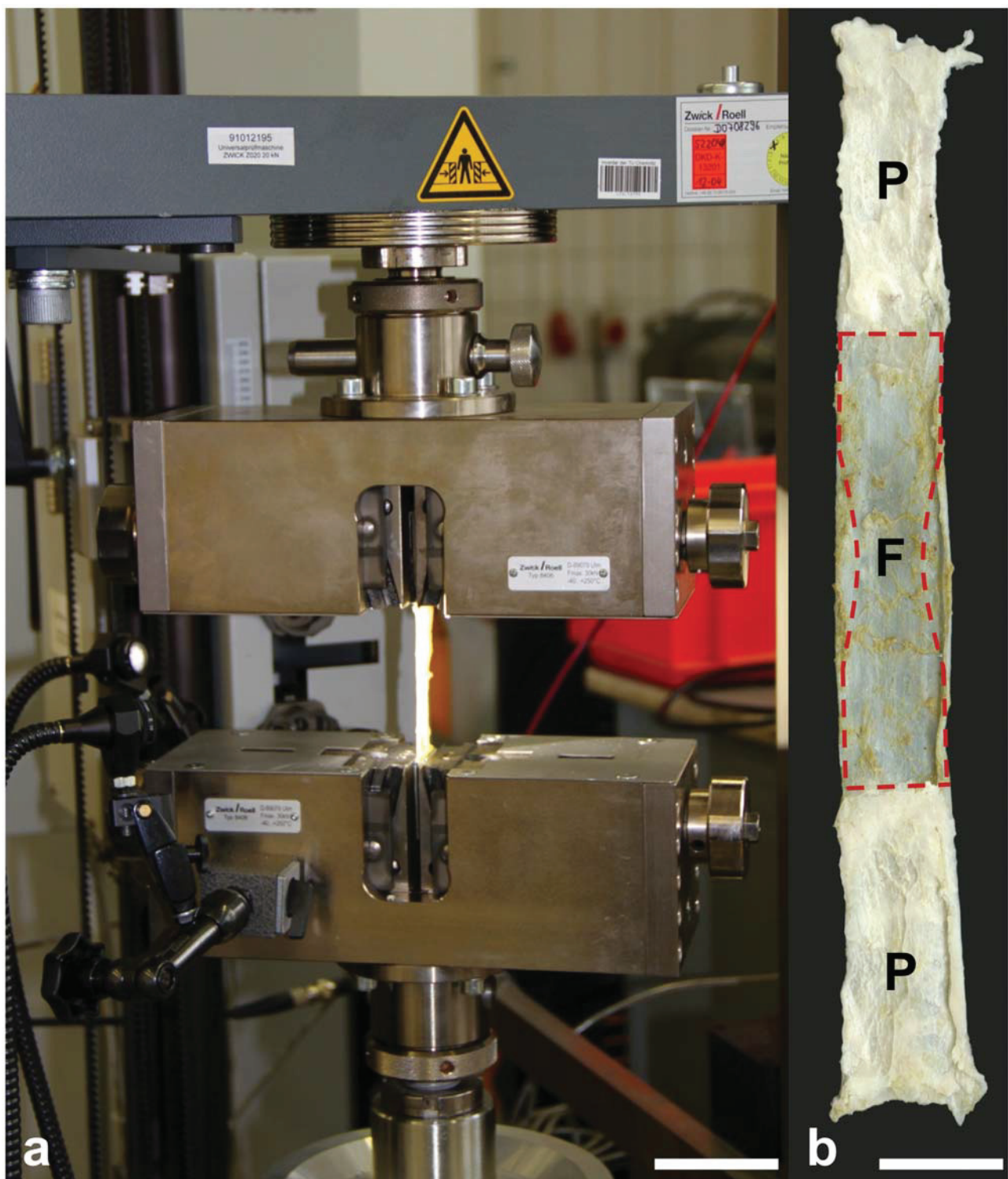


Figure 4. Experimental setup for uniaxial stress-strain testing of an acellular iliotibial tract sample (4a) and partially plastinated tract sample (4b) with a sketch of the template used to taper the specimens (red figure with broken line). F = fresh (unfixed) and P = unfixed part of the tract sample; scale bar = 50 mm (4a), 17 mm (4b)
doi:10.1371/journal.pone.0105037.g004

the samples (20–30 mg) were incubated in a shaking water bath (56°C) for 12 h, containing lysis buffer and proteinase K. The DNA was purified and measured spectrophotometrically with a

Nanodrop spectrophotometer (Peqlab, Erlangen, Germany). On the basis of the DNA content recorded from each of the native, acellular or acellular and digested samples, the extent of DNA

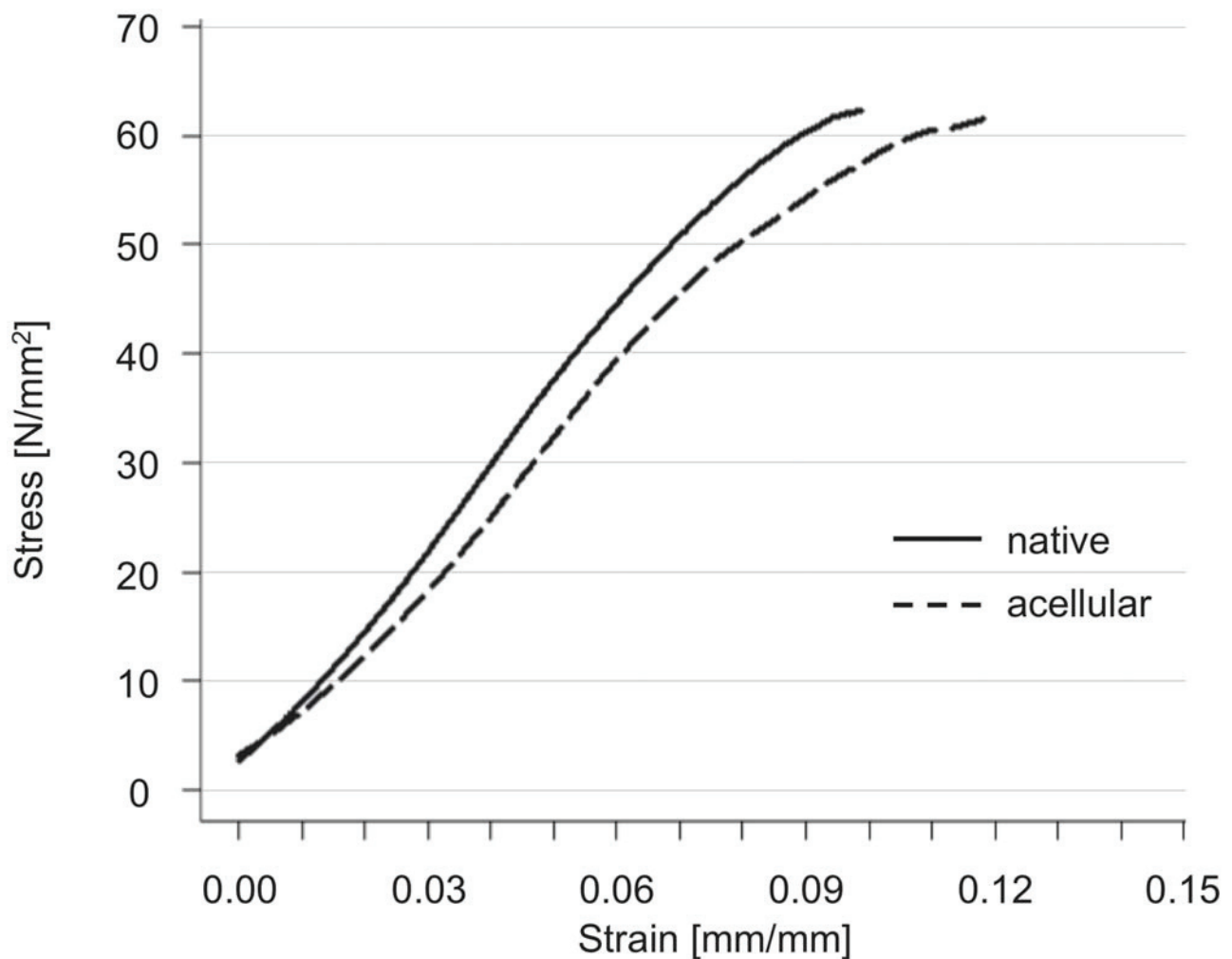


Figure 5. Stress-strain curves of native and acellular iliotibial tract samples obtained from the same donors and anatomical site.
doi:10.1371/journal.pone.0105037.g005

removal was calculated as a ratio acellular/native tract or acellular and digested/native tract, as proposed by Pridgen et al. [16] and Schulze-Tanzil et al. [9]. For qualitative fragment length analysis, 5–12 μ g of total DNA was electrophoretically separated in a 1.5% agarose gel (50 min, 120 V). After the run, the gel was documented by light exposure in the FastGene GelPic LED Bos (Nippon Genetics Europe, Dueren, Germany).

5. Data analyses

The anthropometric data from the body donors, the results from mechanical testing and from the DNA assay were analyzed by means of Microsoft Excel version 2010 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) and SPSS version 20 (Chicago, IL, USA). The Kolmogorov-Smirnov test was used to determine normal distribution of the data. The Student's t-test was used to compare the mechanical data (elastic modulus, ultimate stress, maximum strain). The Tamhane test was used to compare the anthropometric data to the specimen's gender and side statistically. *P* values of 5% or less were considered as statistically significant. Bland-Altman plots were used to compare the alteration of the mechanical data caused by acellularization to the interindividual differences by means of GNU R (R Development, Auckland, New

Zealand; [26,27]). Mean differences, upper and lower limits of agreement (LOA) were calculated.

Results

Comparison of the anthropometric data from the body donors revealed that their age, body length and weight did not significantly vary among the specimens used for the osmotic stress experiments, the mechanical testing and the DNA assay.

1. 24-h submersion in 2.5 wt% PEG solution allows adjusting the water content of tract samples to the initial value

The mean water content of the native samples was $69 \pm 1\%$. Increasing submersion times in the PEG solutions at the given concentrations resulted in decreasing water content of the tract samples. Their water content asymptotically approximated a final value reached after 24 h or less in exponential functions, as shown in Figure 2a. The initial decrease in water content was larger at higher PEG concentrations, i.e. the water content was $62 \pm 4\%$ and $54 \pm 8\%$ after submersion for 2 h in 10 wt% and 20 wt% PEG, respectively. Half-life time of water decrease was 1.2, 2.4, 4.1 and 8.4 hours for PEG concentrations of 50 wt%, 40 wt%,

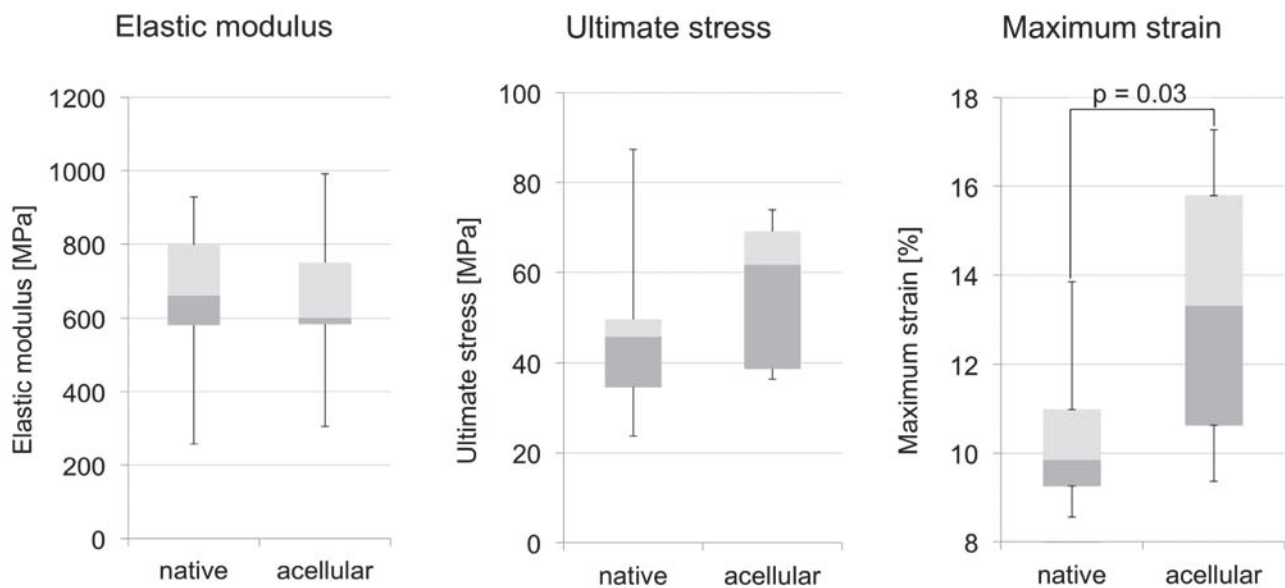


Figure 6. Box plots are depicted for elastic modulus (6a, left), ultimate stress (6b, center) and for maximum strain (6c, right). Material properties were unaffected by acellularization with the exception of maximum strain. doi:10.1371/journal.pone.0105037.g006

20 wt% and 10 wt%, respectively. After 24 hours of submersion, the final water content of the samples was $10 \pm 3\%$, $16 \pm 3\%$, $30 \pm 3\%$, $43 \pm 2\%$, $57 \pm 1\%$ and $65 \pm 4\%$ at PEG concentrations of 50 wt%, 40 wt%, 20 wt%, 10 wt%, 5 wt% and 2.5 wt%, respectively (Figure 2b).

Equilibration of the tract samples in 2.5 wt% PEG solution providing an osmotic pressure of 0.75 MPa resulted in the closest water content, as compared to the native samples. A standard exponential fit equation was used to calculate the shortest submersion time to reach a final water content of 65% in 2.5 wt% PEG after 10.6 hours. All partially plastinated sample pairs were therefore dialyzed in 2.5 wt% PEG concentration for 24 hours prior to material testing.

2. Tensile material properties are unaltered in acellular tract scaffolds with the exception of maximum strain

Stress-strain data of 18 tract samples were recorded. All specimens were tested until material failure. The failure site was always located centrally with one exception in the native and another in the acellular group, but without any signs of avulsion phenomena caused by the plastination resin. One representative stress-strain curve is depicted in Figure 5. The results of the data are summarized in Figure 6, in Table S2 in File S1 and in Figures S1 and S2.

The elastic moduli were 694 ± 139 MPa and 652 ± 199 MPa in the native and the acellular group, respectively (Figure 6a). The elastic moduli did not vary significantly between both groups ($p = 0.41$). Ultimate stress was 47 ± 19 MPa and 52 ± 14 MPa in the native and the acellular group, respectively (Figure 6b). Ultimate stress did not vary significantly between both groups ($p = 0.26$). Maximum strain was significantly larger in the acellular group ($10 \pm 2\%$) than in the native one ($13 \pm 3\%$; $p = 0.005$; Figure 6c).

3. SDS acellularization causes a near-total removal of cells but only a subtotal removal of DNA in the tract scaffolds

All HE-stained samples obtained from all partially plastinated tracts could either be allocated to the native or to the acellular

group by means of histological investigation. Inter-rater reliability of the allocation to either group was 100%. In the native group, the nuclei of the fibrocytes and of the vascular endothelium were stained in an intensive blue color, as shown in Figure 7a and b. The collagen fiber bundles separated sharply from the surrounding tissues. In contrast, no nuclei were observed in any of the acellular samples (Figure 7c,d). Here, the collagen fiber bundles appeared to be washed out, leaving behind blurry structural borders to the adjacent tissues. The safranin-o stained samples showed that the proteoglycans of the tract samples were preserved to a variable extent in both the native and the acellular samples (Figure 8). No changes that were clearly attributable to the acellularization were observed.

The DNA content of the native tract samples (206 ± 86 ng/mg tissue) was significantly higher than in the acellular scaffolds (92 ± 36 ng/mg tissue; $p < 0.001$), indicating a gross but incomplete 55% removal of the DNA (Figure 9). Further treatment of the scaffolds with DNase caused further non-significant decrease in the DNA content of the acellular tract scaffolds (70 ± 21 ng/mg tissue; 66% removal of the DNA). Qualitative analysis with gel electrophoresis showed intact bands in the native samples with a size larger than 10,000 base pairs (Figure 10). Acellularization caused a gross but incomplete removal of this band, accompanied by a visible DNA-smear below the initial band. When treating the acellular tract scaffolds with DNase, the smear was removed but the DNA band larger than 10,000 base pairs remained.

Discussion

This is the first study that directly compares mechanical and histological characteristics of acellular scaffolds and their native counterparts obtained from the same donors and from the same anatomical site. The major aim of this study was to establish a protocol that allows the investigation of minute alterations in the mechanical properties of collagen scaffolds by minimizing potential confounding factors with impact on *ex-vivo* tissue mechanics. The following confounding factors were addressed with potential impact on tensile properties: (1) origin/anatomical

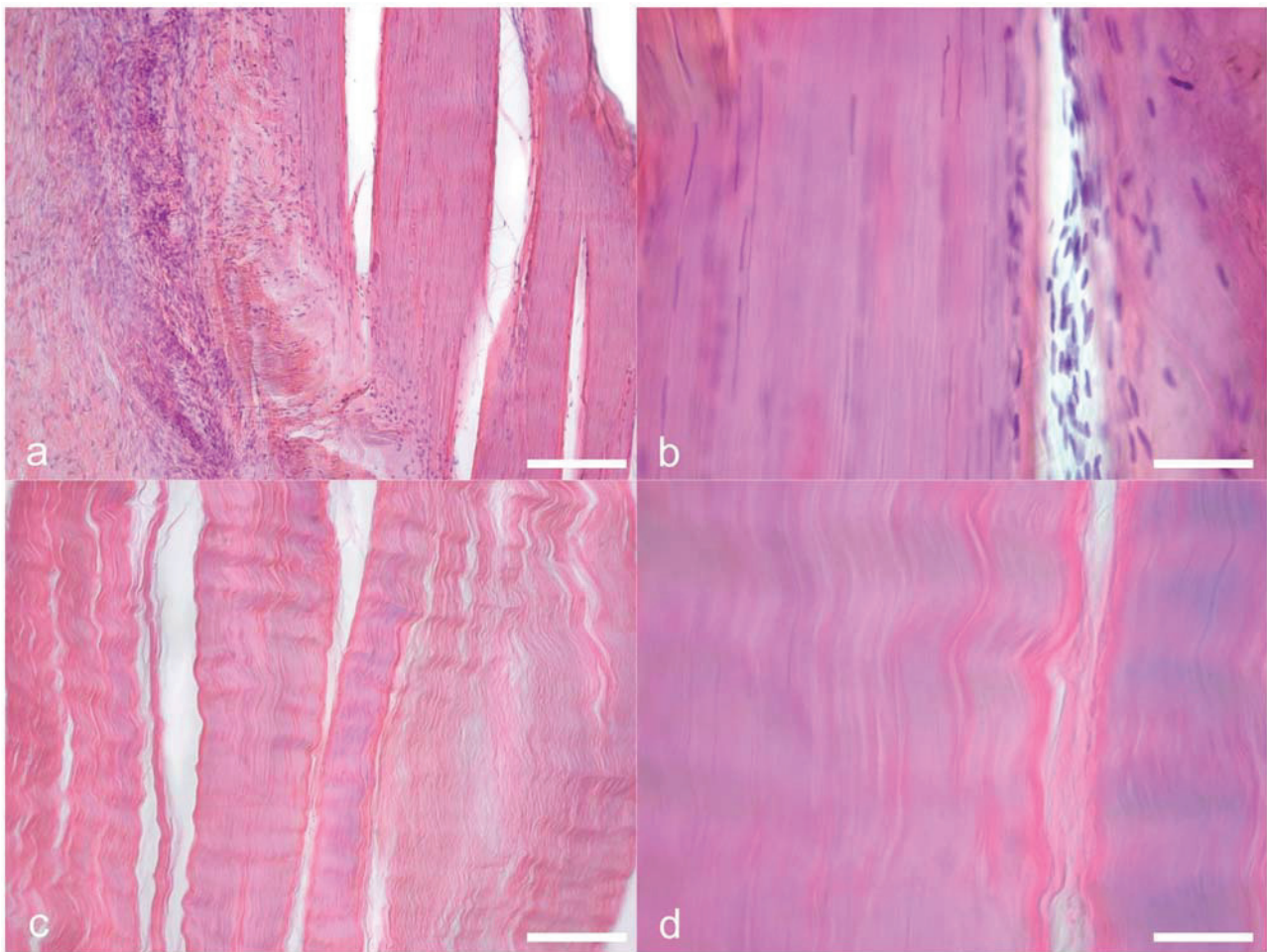


Figure 7. Hematoxylin-eosin stained histology samples were obtained from the native iliotibial tract and from acellular scaffolds. In the native samples (7a,b), nuclei are stained in an intensive blue color. In the acellular scaffolds, the nuclei vanished and the collagen appears to be washed out (7c,d). Scale bar 25 μ m (7a,c) and 12 μ m (7b,d).
doi:10.1371/journal.pone.0105037.g007

site of the tissue, (2) uniaxial testing of tissues that are physiologically loaded uniaxially, (3) same water content and (4) material slippage. On the basis of the protocol, it was furthermore hypothesized that the loss of cells alters the tensile properties in acellular collagen scaffolds such as the iliotibial tract, as compared to the native state. With the given experimental setup, the influence of cells on tissue mechanics is determined indirectly in a model using human iliotibial tract specimens. Tract samples serve as a well-described model of human ligaments and tendons [19,23,28,29].

1. Do cells contribute to tensile mechanics of ligaments and tendons?

A comparison of the acellular scaffolds to the native tracts reveals that tensile properties remain largely unchanged, confirming the findings of Hülsmann and coworkers [7] and Pridgen et al. [16]. The elastic modulus and ultimate stress are negligibly affected and the observed deviations of the mean values are partially related to the interindividual variation of the samples. One exception is the maximum strain, which is significantly higher in the acellular tract scaffolds. One explanation for the difference in maximum strain is the following: When the specimen is

strained, the collagen bundles are also strained. This strain may cause a lateral (transverse) contraction of the collagen bundles, as shown in our previous study [30]. The described mechanism transfers a load on the partly incompressible fibrocytes or tenocytes, since they are located between the collagen bundles. Thereby the cells contribute to load transfer, as they impose constraints on lateral contraction. If the cells are removed in the acellular scaffolds (Figure 7c,d), the lateral contraction of collagen can slightly continue, explaining the larger extent of tensile strain at maximum stress in the acellular scaffolds. The proposed mechanism might limit the extent of contraction in native samples and therefore collagen elongation. Another explanation might be in terms of a greater interaction between the cells and the matrix. This phenomenon has been reported in the field of material science and research work on reinforced polymers by means of filler materials [31]. Thus, the adhesion between the cells and the matrix in native specimens hinder their elongation and thereby decrease their ductility. Consequently the acellular scaffolds can be strained to further extent until material failure of the extracellular collagen without effects on the elastic modulus or ultimate stress. Beyond these explanations, the washout of extracellular glycosaminoglycans [9,15] or other negatively charged extracellular

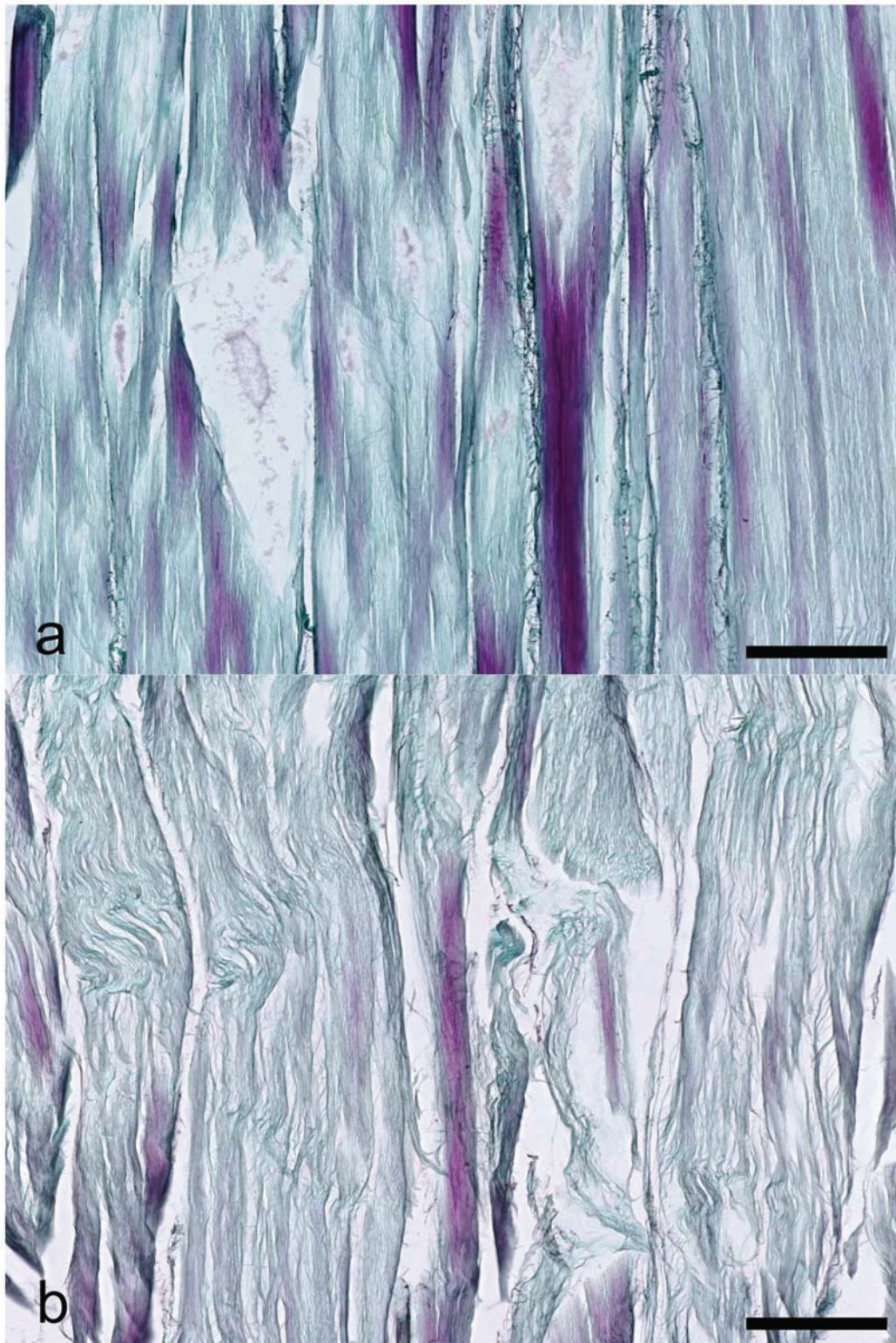


Figure 8. Safranin-o staining of native (8a) and acellular (8b) iliotibial tract samples. Scale bar = 1000 μ m.
doi:10.1371/journal.pone.0105037.g008

matrix proteins could be another explanation [32–34] related to the use of SDS or TritonX. However, we found a variable appearance of proteoglycans in both the native and the acellular

samples, as indicated by the safranin-o staining (Figure 8). Moreover, Svensson and coworkers found that glycosaminoglycans cannot be considered as mediators of force transmission in

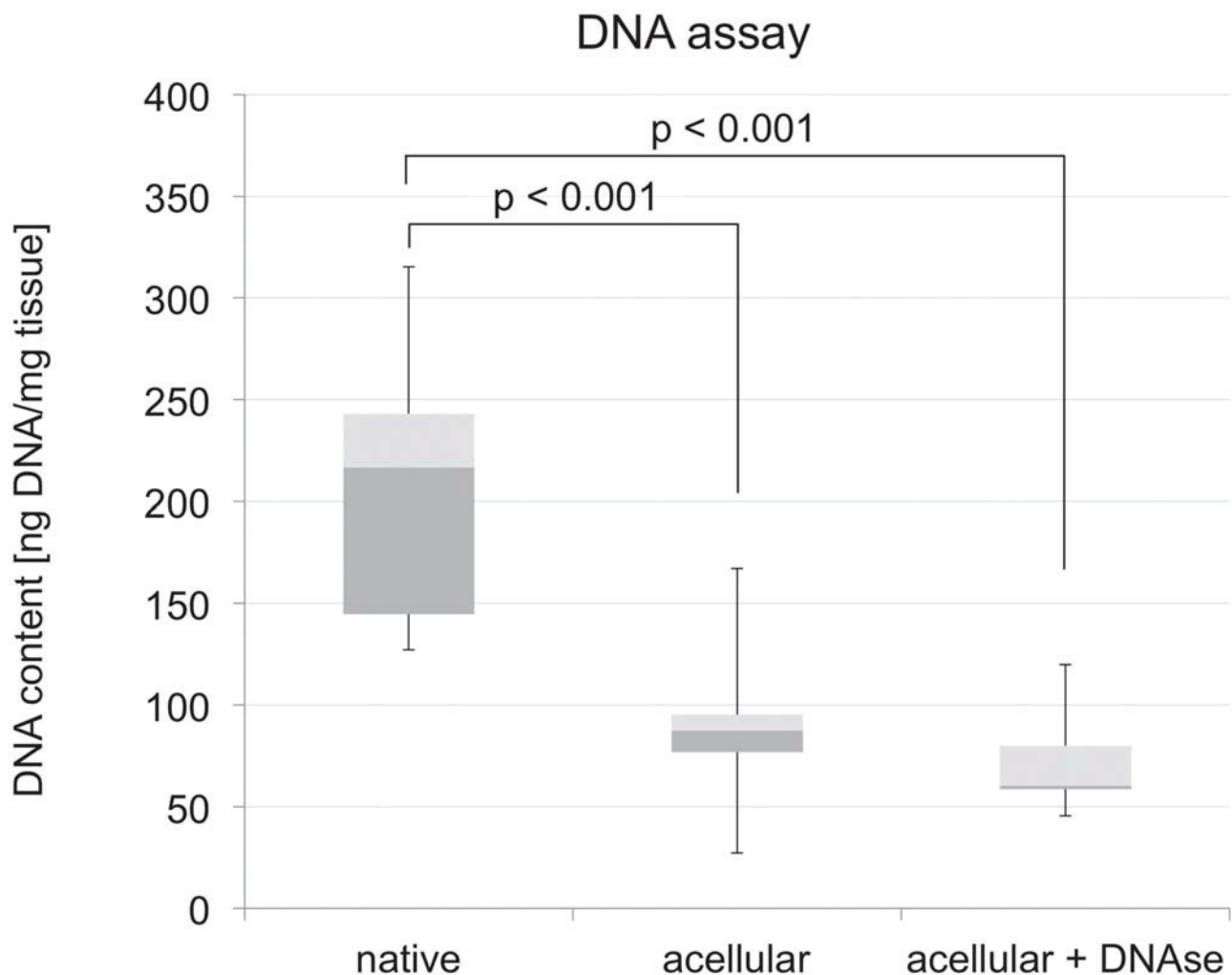


Figure 9. DNA assay of native iliotibial tract samples and corresponding acellular scaffolds. Acellularization related DNA loss was subtotal regardless of the use of DNase ($p < 0.001$).
doi:10.1371/journal.pone.0105037.g009

human tendons, as their removal does not affect elastic modulus, peak stress and strain [35]. In summary, our static uniaxial measurements indicate that cells do not directly influence tensile tissue mechanics with related stability *in vitro*.

However, fibrocytes or tenocytes play an extensive indirect role in maintaining tissue integrity when loaded mechanically as they are the primary source of the extracellular matrix. The synthesis of collagen and elastin by the cell populations were shown to be dependent upon the load exercised on the cell populations [36–38]. Their well-coordinated function is the result of interaction by means of connexins [38], TGF β [36,39,40], matrix metalloproteinases [41], platelet-derived growth factor, tenascin-C [36], bone morphogenetic protein 7 [42,43] and lysyl oxidase [40]. In summary our hypothesis has to be rejected: The role of cells in tendon or ligament biomechanics is largely limited to protein synthesis.

2. SDS acellularization negligibly influences uniaxial tensile properties of the human iliotibial tract but incompletely removes DNA from tract scaffolds

To answer the question whether acellular specimens have altered mechanical properties, we established a novel setup taking

into account four major issues in the material testing of connective tissues.

First, previous studies used either the native or the acellular condition of tissues obtained from different donors, species or scaffold types [1,4,6,7,10,11,16]. Comparisons based on these data potentially hamper quantifying strain characteristics, as tendons and ligaments are known to vary interindividually. Testing of human tissues was limited to small sample sizes, with the donors' history and other donor related data mostly remaining unclear [1,7]. Such comparison was not the aim of the aforementioned studies, which focused on a clinical applicability of acellular scaffolds. Secondly, uniaxial stress was previously applied to tissues that are strained multiaxially *in vivo*, e.g. the pericardium [1,7,44]. Addressing these issues, we exclusively tested the central part of the human tract in a representative sample size and directly compared tissues from the same donors, combined with histology to verify the extent of acellularization. *In vivo* the central part of the iliotibial tract is mainly exposed to uniaxial strain, which was our rationale for testing it uniaxially to closely resemble the *in-vivo* static situation. The iliotibial tract has no gender- or side-dependent differences [19]. This helped justify our choice of specimens though only a limited number of female specimens was

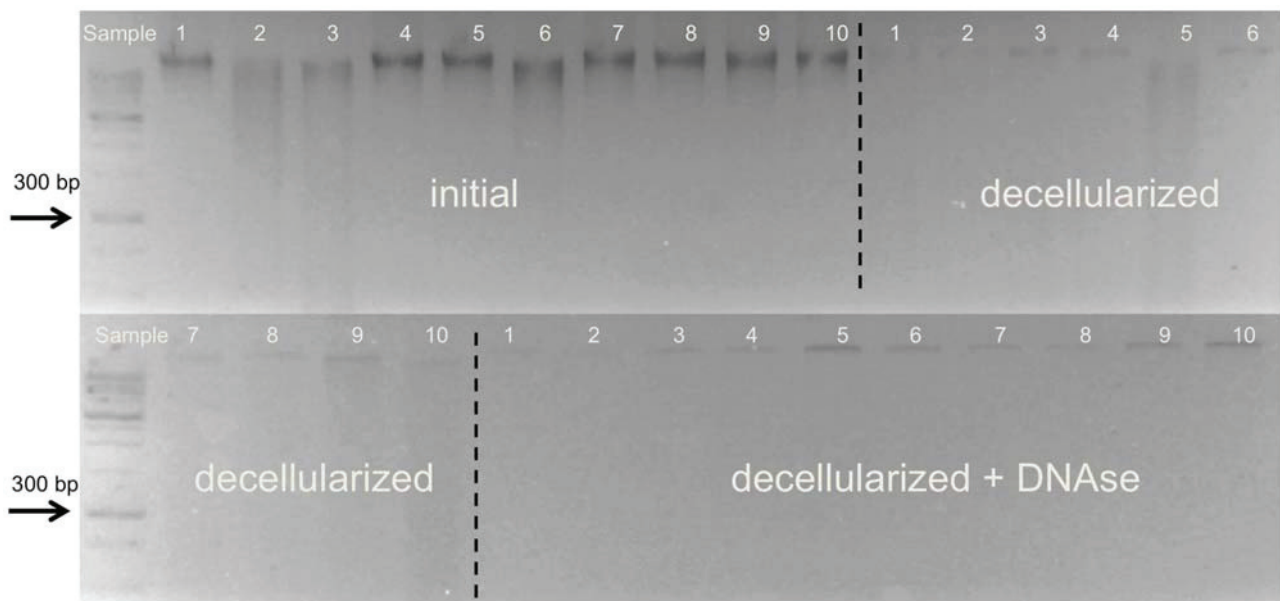


Figure 10. Gel electrophoresis of native iliotibial tract samples and corresponding acellular scaffolds with and without DNase. Lane numbers indicate the respective sample.
doi:10.1371/journal.pone.0105037.g010

available and mostly from the left side of the human body donors. Presuming that the samples have a rectangular cross section, as done in our study, is another simplification that could potentially influence the results [45]. Third, it is well known that the mechanics of collagen tissue strongly depends on water content [46–48]. Altered water content related to the acellularization procedure or interindividual variations, is therefore likely to influence the material testing results to the effect that determining small differences due to acellularization may be hampered. However, the water content was not recorded in previous setups of collagen scaffolds in mechanical testing. To address this issue, we established a protocol using the osmotic stress technique that allows adjusting the water content osmotically in all samples. A fourth issue is material slippage. It frequently occurs in material testing of soft tissues and it introduces unpredictable errors to the results. Sutures or cryoclampping may circumvent this issue but these techniques alter the site of failure with related material properties [11,44]. Also connective tissues are known to have temperature-dependent strain values [18]. Testing bone-ligament-bone-complexes [6,11] or partially plastinated samples [19,23] at a constant temperature is consequently more appropriate. Using the partial plastination method we minimized material slippage and obtained similar tensile data from native samples as published previously [19,23,28,29]. The tensile properties of the acellular scaffolds are also quite similar to the published data [19,23,28,29]. Our findings indicate that SDS does not necessarily impair the tensile properties of collagen tissues at the given concentrations and times, as stated elsewhere [9,15].

These results and the fact that the acellularization with SDS causes an extensive removal of cellular DNA, shown elsewhere [16], suggest that SDS may have the potential to be used for obtaining acellular scaffolds of ligaments or tendons for surgical reconstruction and reinforcement. However, the microscopic slices revealed that collagen is affected visibly by washout phenomena (Figure 7c,d). Furthermore, the relative extent of DNA removal is less complete in the tract specimens and in tendons [16] when compared to other tissues [8] treated with SDS (Figure 9). Also,

DNA fragments of considerable and varying length remain in the scaffolds after acellularization or combined acellularization and further treatment with DNase, indicated by the smear in gel electrophoresis (Figure 10). The extent of DNA removal complies with a previous study of Pridgen and coworkers using SDS [16]. Recently, the group of Ozasa et al. could show that acellularization with trypsin and Triton X-100 efficiently removes DNA from collagen scaffolds in canine flexor tendons [49]. Triton X-100 might therefore be more suitable for removing the DNA from the collagen scaffolds.

The remaining DNA in acellular scaffolds is suspected to be a target site of immune reactions, e.g. mediated by macrophages [50]. In spite of this theory, commercially available scaffolds contain differing amounts of DNA with differing fragment lengths [51]. As an example, intact DNA was detected in GraftJacket (Wright Medical Technology Inc., Arlington, TN, USA; [51]). Presently there is no uniform standard to evaluate acellular tissues [52] and even cell-free tissues may cause inflammatory reactions, though complete transplant rejection is less likely [51,53]. Cross-linking of the tissues may help to slow down inflammation [8]. However, this issue was beyond the scope of our study, aiming to determine the mechanical influence of cells on ligament or tendon mechanics. Here, cross-linking would have altered mechanical properties.

The cause for the incomplete removal in the scaffolds, presented here, remains unclear. Possibly, a dense network of collagen species and the undirected matrix of glycosaminoglycans serve as diffusion barriers for both the SDS and the fragmented DNA. The phenomenon of incomplete DNA removal in collagen species was already reported previously [16,49,54,55]. Additional freeze thawing cycles might help enhance the effectiveness of the acellularization [54], but likely damage the tissues mechanically by the formation of ice needles. Furthermore, the group of Adams et al. described a transient decrease of mechanical strength in a canine *in-vivo* model six weeks after surgical implantation of a dermal graft in rotator cuff injuries [10]. It is unclear whether the temporary decrease in mechanical resilience also applies to

collagen structures of the human system, though such effects are very likely. One shortcoming of our study is that it does not provide *in-vivo* data of tract samples, which should be addressed in future studies. Further research is necessary to optimize the SDS protocol in collagen scaffolds before clinical application, especially considering the remaining DNA content. Also, the effectiveness of acellularization and the changes of collagen related to SDS should be investigated in more detail, using ultrastructural imaging techniques.

3. Clinical implications and outlook

Beyond the academic question whether cells contribute to tensile properties of ligaments and tendons, our study suggests that human iliotibial tract scaffolds may potentially be used for reconstructing ligament tears or tendon ruptures after further improvement of the acellularization protocol with SDS. Mostly, acellular dermal matrices [3–5,12,56] are used for this purpose, e.g. for abdominal wall [57,58] or rotator cuff injuries [10], hand reconstruction [11,12], Achilles tendon rupture [56] or for the hip abductor repair [4]. The rationale behind this application is to reinforce the site of injury [1,5] – but potentially to the effect that an additional injury is facilitated elsewhere due to the increased stiffness caused by the scaffold. Acellular tissues that closely resemble the healthy condition may circumvent this issue. The tract seems very attractive in this context. It can be obtained easily from (post-mortem) body donors due to its superficial anatomical location and it is an established model of ligament and tendon mechanics. Therefore, acellular tract scaffolds may be an interesting alternative to dermal scaffolds for an anatomical reconstruction in orthopedic or plastic surgery. However, the remaining DNA in the scaffold may cause a scaffold rejection or enhanced inflammatory reactions at the site of surgery. This issue should be solved before tract scaffolds may be applied on patients.

Supporting Information

Figure S1 Stress-strain curves of native (left) and acellular (right) iliotibial tract samples. The relative strain

data represent the amount of strain for final cycle until material failure. Same colors are used for the corresponding samples originating from the same body donor. The elastic modulus was determined in the most linear region of the stress-strain curve by means of regression analysis.

(TIF)

Figure S2 Bland-Altman plots are depicted for the elastic modulus (4a, left), ultimate stress (4b, center) and maximum strain (4c, right). The mean differences and the upper and lower limits of agreement are depicted. Material properties are unaffected by acellularization with the exception of maximum strain. ILOA = lower limit of agreement, mean = mean deviation, uLOA = upper limit of agreement.

(TIF)

File S1 This file contains Table S1 and Table S2. Table S1. Specimen characteristics. Table S2. Mechanical properties, location of failure and statistical data.

(DOCX)

Acknowledgments

The authors would like to thank Thomas Wolskämpf and Hanno Steinke for helping with the plastination of the iliotibial tract samples. Steffen Claus and Christoph Wollschläger assisted with the material testing. Stefan Schleifenbaum critically revised the manuscript, Christine Auste made the pictures and Gustav Ferdinand Preller proofread the paper as a native speaker.

Author Contributions

Conceived and designed the experiments: NH DH FS. Performed the experiments: NH SF HK PS FS. Analyzed the data: NH SF PS FS. Contributed reagents/materials/analysis tools: NH DH CH AB MW. Wrote the paper: NH DH CH HK PS FS MW.

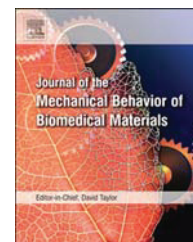
References

- Barber FA, Aziz-Jacobo J (2009) Biomechanical testing of commercially available soft-tissue augmentation materials. *Arthroscopy* 25 (11): 1233–1239.
- Branch JP (2011) A tendon graft weave using an acellular dermal matrix for repair of the Achilles tendon and other foot and ankle tendons. *J Foot Ankle Surg* 50 (2): 257–265.
- Chen J, Xu J, Wang A, Zheng M (2009) Scaffolds for tendon and ligament repair: review of the efficacy of commercial products. *Expert Rev Med Devices* 6 (1): 61–73.
- Rao BM, Kamal TT, Vafaye J, Taylor L (2012) Surgical repair of hip abductors. A new technique using Graft Jacket allograft acellular human dermal matrix. *Int Orthop* 36 (10): 2049–2053.
- Rubin L, Schweitzer S (2005) The use of acellular biologic tissue patches in foot and ankle surgery. *Clin Podiatr Med Surg* 22 (4): 533–52, vi.
- Tischer T, Aryee S, Wexel G, Steinhauser E, Adamczyk C, et al. (2010) Tissue engineering of the anterior cruciate ligament-sodium dodecyl sulfate-acellularized and revitalized tendons are inferior to native tendons. *Tissue Eng Part A* 16 (3): 1031–1040.
- Hülsmann J, Grün K, El Amouri S, Barth M, Hornung K, et al. (2012) Transplantation material bovine pericardium: biomechanical and immunogenic characteristics after decellularization vs. glutaraldehyde-fixing. *Xenotransplantation* 19 (5): 286–297.
- Koch H, Graneist C, Emmrich F, Till H, Metzger R, et al. (2012) Xenogenic esophagus scaffolds fixed with several agents: comparative in vivo study of rejection and inflammation. *J Biomed Biotechnol* 2012: 948320.
- Schulze-Tanzil G, Al-Sadi O, Ertel W, Lohan A (2012) Decellularized Tendon Extracellular Matrix - A Valuable Approach for Tendon Reconstruction. *Cells* 1: 1011–1028. Available: www.mdpi.com/journal/cells.
- Adams JE, Zobitz ME, Reach JS, An K, Steinmann SP (2006) Rotator cuff repair using an acellular dermal matrix graft: an in vivo study in a canine model. *Arthroscopy* 22 (7): 700–709.
- Ehsan A, Lee DG, Bakker AJ, Huang JI (2012) Scapholunate ligament reconstruction using an acellular dermal matrix: a mechanical study. *J Hand Surg Am* 37 (8): 1538–1542.
- Ellis CV, Kulber DA (2012) Acellular dermal matrices in hand reconstruction. *Plast Reconstr Surg* 130 (5 Suppl 2): 256S–69S.
- Hwang K, Hwang JH, Park JH, Kim DJ, Shin YH (2007) Experimental study of autologous cartilage, acellular cadaveric dermis, lyophilized bovine pericardium, and irradiated bovine tendon: applicability to nasal tip plasty. *J Craniofac Surg* 18 (3): 551–558.
- Robayo LM, Moulin VJ, Tremblay P, Cloutier R, Lamontagne J, et al. (2011) New ligament healing model based on tissue-engineered collagen scaffolds. *Wound Repair Regen* 19 (1): 38–48.
- Gilbert TW, Sellaro TL, Badyak SF (2006) Decellularization of tissues and organs. *Biomaterials* 27 (19): 3675–3683.
- Pridgen BC, Woon, Colin Y L, Kim M, Thorfinn J, Lindsey D, et al. (2011) Flexor tendon tissue engineering: acellularization of human flexor tendons with preservation of biomechanical properties and biocompatibility. *Tissue Eng Part C Methods* 17 (8): 819–828.
- Song L, Olsen RE, Spalazzi JP, Davisson T (2010) Biomechanical evaluation of acellular collagen matrix augmented Achilles tendon repair in sheep. *J Foot Ankle Surg* 49 (5): 438–441.
- Arnold G (1974) Biomechanische und rheologische Eigenschaften menschlicher Sehnen. *Z Anat Entwicklungsgesch* 143 (3): 263–300.
- Hammer N, Lingslebe U, Aust G, Milani T, Hädrich C, et al. (2012) Ultimate stress and age-dependent deformation characteristics of the iliotibial tract. *J Mech Behav Biomed Mater* (16): 81–86. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmbbm.2012.04.025>.
- Parsegian VA, Rand RP, Rau DC (1995) Macromolecules and water: probing with osmotic stress. *Meth Enzymol* 259: 43–94.
- Zernia G, Huster D (2006) Collagen dynamics in articular cartilage under osmotic pressure. *NMR Biomed* 19 (8): 1010–1019.

22. Gawrisch K, Arnold K, Dietze K, Schulze U (1988) Hydration forces between phospholipid membranes and the polyethylen glycol induced membrane approach. In: Markov M, Blank M, editors. *Electromagnetic Fields and Biomembranes*. New York: Plenum Press. pp.9–18.
23. Steinke H, Lingslebe U, Böhme J, Slowik V, Shim V, et al. (2012) Deformation behavior of the iliotibial tract under different states of fixation. *Med Eng Phys* 34 (9): 1221–1227.
24. Romeis B, Böck P, Denk H (1989) *Romeis mikroskopische Technik*. München: Urban und Schwarzenberg. 697 p.
25. Bos I, Zagorski M, Boos C, Krüger S (2008) Histopathologische Diagnostik der infektiösen Gelenkendoprothesenlockerung. *Pathologe* 29 (4): 280–286.
26. Bland JM, Altman DG (1986) Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1 (8476): 307–310.
27. McLaughlin P (2013) Testing agreement between a new method and the gold standard-how do we test. *J Biomech* 46 (16): 2757–2760.
28. Birnbaum K, Siebert CH, Pandorf T, Schopphoff E, Prescher A, et al. (2004) Anatomical and biomechanical investigations of the iliotibial tract. *Surg Radiol Anat* 26 (6): 433–446.
29. Gratz C (1931) Tensile strength and elasticity test on human fascia lata. *J Bone Joint Surg Am* 13: 334–340.
30. Ernstberger M, Sichtung F, Baselt T, Hartmann P, Aust G, et al. (2013) Combined spectrophotometry and tensile measurements of human connective tissues: potentials and limitations. *J Biomed Opt* 18 (6): 60506.
31. Igarza E, Pardo SG, Abad MJ, Cano J, Galante MJ, et al. (2014) Structure–fracture properties relationship for Polypropylene reinforced with fly ash with and without maleic anhydride functionalized isotactic Polypropylene as coupling agent. *Materials & Design* 55: 85–92.
32. Oliveira AC, Garzón I, Ionescu AM, Carriel V, Cardona JdL, et al. (2013) Evaluation of small intestine grafts decellularization methods for corneal tissue engineering. *PLOS ONE* 8 (6): e66538.
33. Lang R, Stern MM, Smith L, Liu Y, Bharadwaj S, et al. (2011) Three-dimensional culture of hepatocytes on porcine liver tissue-derived extracellular matrix. *Biomaterials* 32 (29): 7042–7052.
34. Yoeruek E, Bayyoud T, Maurus C, Hofmann J, Spitzer MS, et al. (2012) Decellularization of porcine corneas and repopulation with human corneal cells for tissue-engineered xenografts. *Acta Ophthalmol* 90 (2): e125–31.
35. Svensson RB, Hassenkam T, Hansen P, Kjaer M, Magnusson SP (2011) Tensile force transmission in human patellar tendon fascicles is not mediated by glycosaminoglycans. *Connect Tissue Res* 52 (5): 415–421.
36. Chiquet M, Renedo AS, Huber F, Flück M (2003) How do fibroblasts translate mechanical signals into changes in extracellular matrix production. *Matrix Biol* 22 (1): 73–80.
37. Connizzo BK, Sarver JJ, Birk DE, Soslowsky LJ, Iozzo RV (2013) Effect of age and proteoglycan deficiency on collagen fiber re-alignment and mechanical properties in mouse supraspinatus tendon. *J Biomech Eng* 135 (2): 21019.
38. Waggett AD, Benjamin M, Ralphs JR (2006) Connexin 32 and 43 gap junctions differentially modulate tenocyte response to cyclic mechanical load. *Eur J Cell Biol* 85 (11): 1145–1154.
39. Kjaer M, Langberg H, Bojsen-Møller J, Koskinen SO, Mackey A, et al. (2008) Novel methods for tendon investigations. *Disabil Rehabil* 30 (20–22): 1514–1522.
40. Kostrominova TY, Brooks SV (2013) Age-related changes in structure and extracellular matrix protein expression levels in rat tendons. *Age (Dordr)*.
41. Asundi KR, Rempel DM (2008) MMP-1, IL-1 β , and COX-2 mRNA expression is modulated by static load in rabbit flexor tendons. *Ann Biomed Eng* 36 (2): 237–243.
42. Klatte-Schulz F, Pauly S, Scheibel M, Greiner S, Gerhardt C, et al. (2012) Influence of age on the cell biological characteristics and the stimulation potential of male human tenocyte-like cells. *Eur Cell Mater* 24: 74–89.
43. Klatte-Schulz F, Pauly S, Scheibel M, Greiner S, Gerhardt C, et al. (2013) Characteristics and Stimulation Potential with BMP-2 and BMP-7 of Tenocyte-Like Cells Isolated from the Rotator Cuff of Female Donors. *PLOS ONE* 8 (6): e67209.
44. Sahoo S, Greeson CB, McCarron JA, Milks RA, Aurora A, et al. (2012) Effect of pretension and suture needle type on mechanical properties of acellular human dermis patches for rotator cuff repair. *J Shoulder Elbow Surg* 21 (10): 1413–1421.
45. Seitz AM, Wolfram U, Wiedenmann C, Ignatius A, Dürselen L (2012) Impact of measurement errors on the determination of the linear modulus of human meniscal attachments. *J Mech Behav Biomed Mater* 10: 120–127.
46. Adeeb S, Ali A, Shrive N, Frank C, Smith D (2004) Modelling the behaviour of ligaments: a technical note. *Comput Methods Biomech Biomed Engin* 7 (1): 33–42.
47. Elden HR (1964) Hydration of connective tissue and tendon elasticity. *Biochim Biophys Acta* 79: 592–599.
48. Thorpe CT, Birch HL, Clegg PD, Screen HRC (2013) The role of the non-collagenous matrix in tendon function. *Int J Exp Pathol*.
49. Ozasa Y, Amadio PC, Thoreson AR, An K, Zhao C (2014) Repopulation of intrasynovial flexor tendon allograft with bone marrow stromal cells: an ex vivo model. *Tissue Eng Part A* 20 (3–4): 566–574.
50. Zheng MH, Chen J, Kirilak Y, Willers C, Xu J, et al. (2005) Porcine small intestine submucosa (SIS) is not an acellular collagenous matrix and contains porcine DNA: possible implications in human implantation. *J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater* 73 (1): 61–67.
51. Gilbert TW, Freund JM, Badylak SF (2009) Quantification of DNA in biologic scaffold materials. *J Surg Res* 152 (1): 135–139.
52. Keane TJ, Londono R, Turner NJ, Badylak SF (2012) Consequences of ineffective decellularization of biologic scaffolds on the host response. *Biomaterials* 33 (6): 1771–1781.
53. Badylak SF, Gilbert TW (2008) Immune response to biologic scaffold materials. *Semin Immunol* 20 (2): 109–116.
54. Burk J, Erbe I, Berner D, Kacza J, Kasper C, et al. (2013) Freeze-Thaw Cycles Enhance Decellularization of Large Tendons. *Tissue Eng Part C Methods*.
55. Farnebo S, Woon, Colin YL, Bronstein JA, Schmitt T, Lindsey DP, et al. (2014) Decellularized tendon-bone composite grafts for extremity reconstruction: an experimental study. *Plast Reconstr Surg* 133 (1): 79–89.
56. Lee DK (2008) A preliminary study on the effects of acellular tissue graft augmentation in acute Achilles tendon ruptures. *J Foot Ankle Surg* 47 (1): 8–12.
57. Chung S, Hazen A, Levine JP, Baux G, Olivier WM, et al. (2003) Vascularized acellular dermal matrix island flaps for the repair of abdominal muscle defects. *Plast Reconstr Surg* 111 (1): 225–232.
58. Ma SZ, Li XH, Hu J (2006) Acellular extracellular matrix for inguinal hernia repair. *Hernia* 10 (3): 229–231.

Available online at www.sciencedirect.com

ScienceDirect

www.elsevier.com/locate/jmbbm

Technical Note

Quantification of material slippage in the iliotibial tract when applying the partial plastination clamping technique



Freddy Sichting^{a,*}, Hanno Steinke^b, Martin F.-X. Wagner^c, Sebastian Fritsch^c,
Carsten Hädrich^d, Niels Hammer^b

^aDepartment of Human Locomotion, Technische Universität Chemnitz, Chemnitz, Germany

^bInstitute of Anatomy, University of Leipzig, Faculty of Medicine, Leipzig, Germany

^cInstitute of Materials Science and Engineering, Technische Universität Chemnitz, Chemnitz, Germany

^dInstitute of Legal Medicine, University of Leipzig, Faculty of Medicine, Leipzig, Germany

ARTICLE INFO

Article history:

Received 11 February 2015

Received in revised form

19 April 2015

Accepted 27 April 2015

Available online 7 May 2015

Keywords:

Strain

Connective tissue

Material slippage

Clamping

Partial plastination technique

Digital image correlation technique

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the potential of the partial plastination technique in minimizing material slippage and to discuss the effects on the tensile properties of thin dense connective tissue. The ends of twelve iliotibial tract samples were primed with polyurethane resin and covered by plastic plates to provide sufficient grip between the clamps. The central part of the samples remained in an anatomically unfixed condition. Strain data of twelve partially plastinated samples and ten samples in a completely anatomically unfixed state were obtained using uniaxial crosshead displacement and an optical image tracking technique. Testing of agreement between the strain data revealed ongoing but markedly reduced material slippage in partially plastinated samples compared to the unfixed samples. The mean measurement error introduced by material slippage was up to 18.0% in partially plastinated samples. These findings might complement existing data on measurement errors during material testing and highlight the importance of individual quantitative evaluation of errors that come along with self-made clamping techniques.

© 2015 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

In 1967, Michael Abrahams recommended never using cross-head displacement to determine strain data of tendons because these data are limited by factors such as material slippage in the clamping region (Abrahams, 1967). Almost

half a century later, however, it is still common to determine strain data using crosshead displacement in bone and soft tissue biomechanics.

Various modifications of the existing clamping techniques were introduced to minimize material slippage (Ng et al., 2005a). Roughened steel clamps (Wilhelm, 1974), cryo clamps (Merican

*Correspondence to: Thüringer Weg 11, 09126 Chemnitz, Germany. Tel.: +49 371 531 38823; fax: +49 371 531 838823.

E-mail address: freddy.sichting@hsw.tu-chemnitz.de (F. Sichting).

et al., 2009; Riemersa and Schamhardt, 1982), clamps with high friction surfaces (Kiss et al., 2009; Ng et al., 2005b; Reyes et al., 2014), pneumatic clamps (Matthews et al., 1996; Ng et al., 2005a) and custom-made clamps that use the principles of form and force closure (Schechtman and Bader, 1997, 2002; Shi et al., 2012; Wu et al., 2004) were developed to address this issue. However, these techniques have limitations concerning a quantitative description of the measurement error introduced by material slippage. The partial plastination technique is an alternative technique that was optimized for testing thin connective tissues (Hammer et al., 2012; Steinke et al., 2012). In these previous studies, the slippage-minimizing potential was only described qualitatively (Steinke et al., 2012).

The aim of this short communication is to provide technical instruction on the partial plastination technique, and to assess the technique's reliability by quantifying material slippage and the corresponding measurement errors. We started from the premise that an optical strain measurement technique independent of the crosshead displacement is capable of measuring strains without the influence of material slippage. The study design was adapted from Butler et al. (1984), who described an optical strain-measurement technique to determine uniaxial deformation of connective tissue without material slippage. In this report we present quantitative data (obtained from new experimental measurements) on the amount of material slippage by comparing grip-to-grip with optical strain data of human iliotibial tract specimens.

2. Materials and methods

2.1. Sample preparation

Eight iliotibial tract specimens were obtained from eight body donors (4 males, 4 females, mean age 39.3 ± 23.5 years). The university's ethics committee "Ethik-Kommission an der Medizinischen Fakultät der Universität Leipzig" approved this study (protocol number 156-10-1207-2010). All tract specimens were removed from the region with most parallel fibers and sectioned parallel to the fiber direction in two to three samples each, resulting in 22 iliotibial tract samples (Fig. 1A). Twelve samples were plastinated partially. The ten remaining samples in an anatomically unfixed condition, further named non-plastinated samples, were used to estimate the effectiveness of the partial plastination technique. For storage prior to material testing, all samples were precooled at 3°C before shock-freezing them at -85°C .

2.2. Partial plastination technique

Gelatin (10% by volume) and a template made of aluminum were mounted on the central part of the tract samples to protect these areas from the plastination chemicals (Fig. 1B). The ends of the tract samples were dehydrated in acetone before they were primed with polyurethane resin, prepared with a ratio of 1/1/3 with RENCAST FC52 Isocyanate/FC52 Polyol/Ceramic Powder (RenShape solutions, Huntsman International LLC, Salt Lake City, USA) (Fig. 1C). The primed ends were then immediately covered with Pertinax plates (PF CP 201, Dr. Müller GmbH, Ahlhorn, Germany) before the resin cured. The Pertinax plates

helped reinforce the stability of the plastinated ends that were to be clamped in the material-testing machine. The aluminum template and the gelatin were then removed under running water at 37°C , releasing the unfixed central part of the iliotibial tract samples (Fig. 1D). A more detailed description of the partial plastination technique can be found elsewhere (Hammer et al., 2014; Steinke et al., 2012).

2.3. Sample clamping and strain measurement

Prior to material testing, all samples were thawed and moistened in physiological saline. Immediately before material testing, the samples were dried carefully with a paper towel and coated with white acryl-base color and a graphite spray to enable the optical strain measurements. Uniaxial tensile testing was carried out using a Z20.0 testing machine with a 5 kN load cell (Zwick GmbH & Co. KG, Ulm, Germany). Steel clamps with a rough surface were used for the plastinated samples. Rubber-covered clamps were applied for the samples that remained entirely in the unfixed condition to prevent premature failure at the clamping site. The grip-to-grip strain was calculated as the ratio of the crosshead displacement and the initial length of the samples between the clamps (69.4 ± 2.1 mm). The optical strain data were obtained using the digital image correlation technique (DIC), utilizing 2-D video capturing (capturing rate 2 fps; resolution 2448×2050 pixel, Fig. 2B), provided by the Aramis video camera system (GOM—Gesellschaft für Optische Messtechnik mbH, Braunschweig, Germany; Fig. 2A and B). High-resolution images of side-on views of the samples' surfaces were captured throughout the measurements. The optical strain values were calculated by tracking the distance between two defined marker areas, which were set in proximity to the clamps (Fig. 2C). Briefly, each marker area shows a specific pattern of speckled black dots that can be clearly identified and tracked automatically by the video camera system in a series of consecutive images. The ratio of the current distance and the original distance between the two markers give the optical strain. For more details on the DIC procedure, readers can refer to Cheng et al. (2007).

2.4. Study protocol

All measurements included a preconditioning procedure of 20 cycles in a load range of 10 to 100 N, followed by a final cycle until material failure. Material failure was defined as a decrease in tensile load of more than 30%. The crosshead speed was 10 mm/min for preconditioning and the final cycle. Machine and optical strain values were recorded simultaneously for each sample (Fig. 3).

2.5. Reliability of the partial plastination technique

To assess the reliability of the partial plastination technique, the agreement between grip-to-grip and optical strain data was obtained using the Bland and Altman technique (Bland and Altman, 1986) as recommended by Aspden (2005) and McLaughlin (2013). Mean values and standard deviations (SD) of the differences (d) between grip-to-grip and optical strain were calculated. Differences were determined at nine time

periods during the measurement (10% to 90% of strain at material failure with 10% intervals). The 95% confidence limits (limits of agreement or LOA) were calculated as $d_{\text{mean}} \pm 1.96 \text{ SD}$. Mean differences between grip-to-grip and optical strains were then used to calculate the corresponding measurement errors. Numerical comparisons of grip-to-grip and optical strain data, calculation of statistics and measurement errors, and Bland and Altman analysis were realized by means of GNU R (R Development, Auckland, New Zealand).

3. Results

As indicated in Fig. 4, the differences between grip-to-grip and optical strain increased in the partially plastinated and

the non-plastinated samples with increasing tensile load. The difference was smaller in the partially plastinated samples compared to the non-plastinated samples. At 50% of ultimate tensile load the mean grip-to-grip strain was $4.63 \pm 0.80\%$ for partially plastinated samples and $5.50 \pm 1.87\%$ for non-plastinated samples. The according mean optical strain for the plastinated and non-plastinated samples was $4.07 \pm 0.72\%$ and $4.59 \pm 1.98\%$, respectively.

The agreement between partially plastinated and non-plastinated samples at 50% of ultimate tensile load is illustrated in Fig. 5. The grip-to-grip strain of partially plastinated samples differed by 0.56% (LOA 0.18 to 0.95) on average from the strain values obtained via optical measurements. The resulting mean measurement error was 13.8%. At the same load level, strain data of non-plastinated samples differed by

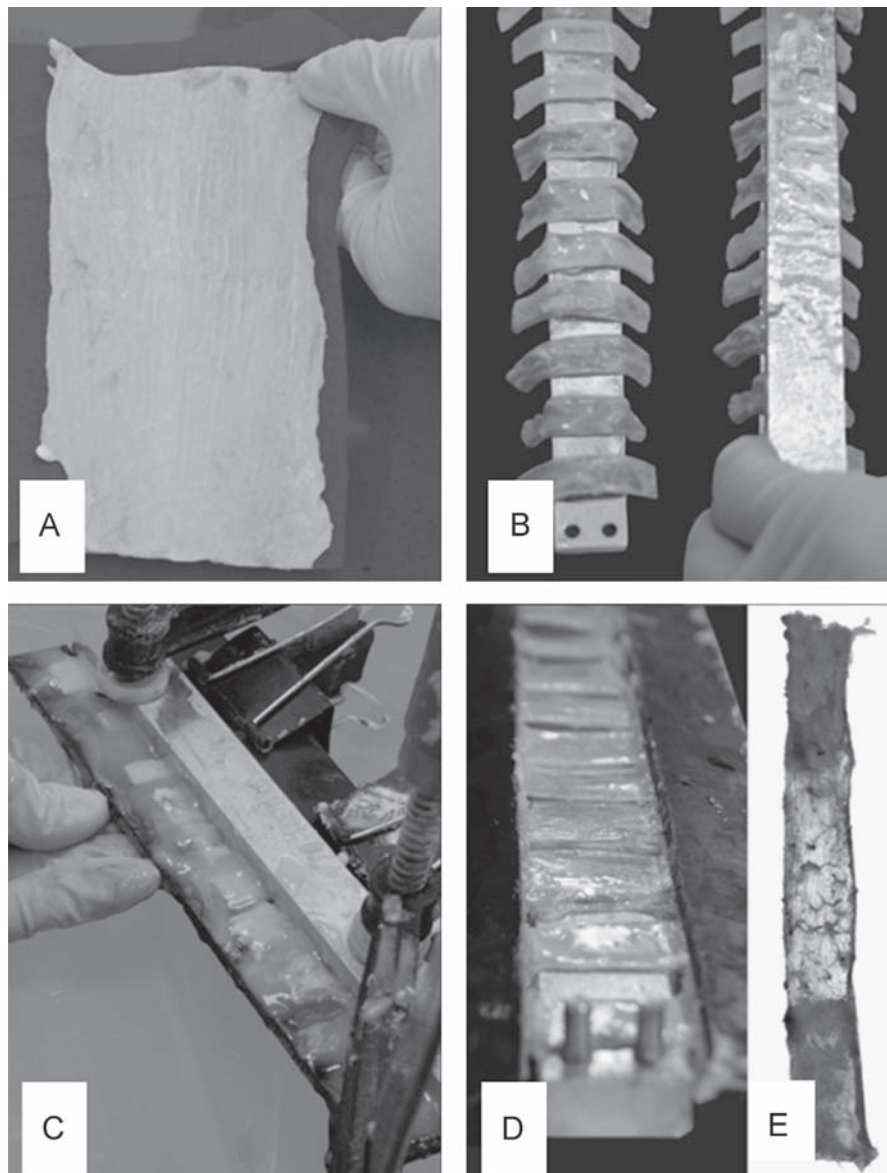


Fig. 1 – Pictorial guidance on the partial plastination technique. All tract samples were removed from the region of most parallel fibers and sectioned parallel to the fiber direction in two to three samples each (A). The central part of the partially plastinated samples remained in an anatomically unfixed condition (B, C and D). The mean length of the anatomically unfixed middle region was $70.0 \pm 2.1 \text{ mm}$ and about 50 mm for each of the plastinated ends (E).

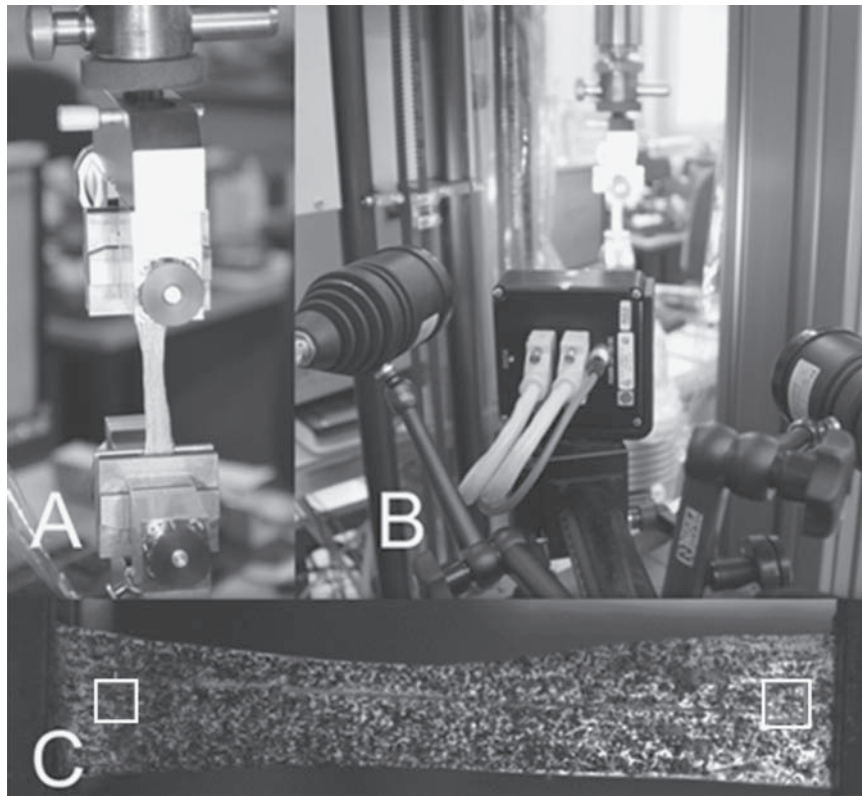


Fig. 2 – Non-contact strain measurement was accomplished using digital image correlation and 2-D video capturing (A+B). The technique based on tracking a speckle pattern within an area (white squares) is located in proximity to the clamps (C).

0.91% (LOA 0.48 to 1.34%) on average, yielding a mean measurement error of 19.8%. With increasing tensile load the mean measurement error increased up to 18.0% in partially plastinated samples and up to 35.4% in non-plastinated samples.

4. Discussion

Our data reveals an ongoing – but markedly reduced – material slippage for the partially plastinated samples, as compared to the non-plastinated iliotibial tract samples. Accordingly, the measurement errors introduced by material slippage are smaller in samples clamped with the partial plastination technique. When measuring strain of thin dense connective tissues like the iliotibial tract by means of the partial plastination clamping technique and crosshead displacement, Bland and Altman analysis shows that at 50% of ultimate tensile load differences in strain after an intervention or between groups should be at least above 0.95% (a change of 20.5%) to be regarded as non-slippage caused difference. Of course, it should be emphasized that these findings cannot be generalized to other gripping systems due to study related user-variability and limitations. However, since there is very limited quantitative information about material slippage in soft tissues (Takaza et al., 2013), our data may serve as a first estimate for thin connective tissues such as the iliotibial tract. These data can complement existing

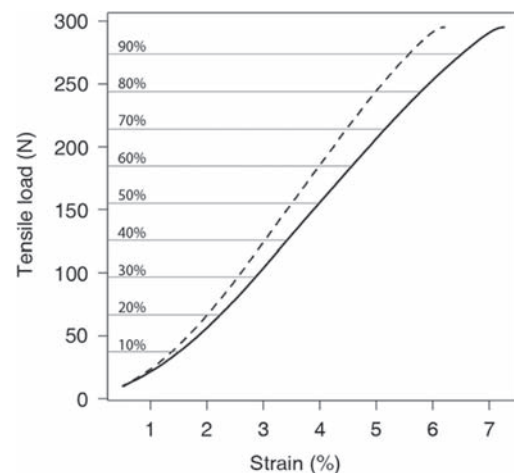


Fig. 3 – Strain behavior during continuous tensile loading until material failure was recorded using crosshead displacement (grip-to-grip strain, solid line) and an optical strain measurement technique (dashed line). Differences between grip-to-grip and optical strain were analyzed between 10 and 90% of ultimate tensile loading.

knowledge on measurement errors introduced by various clamping techniques (Ng et al., 2005a), cross-sectional area determination (Seitz et al., 2012), sample dimensions (Legerlotz et al., 2010), storage duration (Ng et al., 2005b)

and by different states of anatomical fixation (Steinke et al., 2012).

The discussion of the following limitations might help to evaluate the quality of the results presented in this study. First, we did not moisten the samples during testing to avoid a disturbance of the speckle pattern. This simplification may potentially have caused drying effects (Chimich et al., 1992; Thornton et al., 2001). Second, it cannot be excluded that parts of the samples were altered chemically by the color coating to the effect that the strain data were altered (Fung and Sobin, 1981; Hofecker et al., 1972; Steinke et al., 2012). However, these systematic errors were introduced both to the

partially plastinated and the non-plastinated samples in our setup. Histological and mechanical analyses addressing possible drying effects and chemical alterations may be helpful to further clarify these points.

We note that alternative approaches to measure strains without the influence of slippage, like extensometers attached directly to the samples surface, appear to be likewise limited (Abrahams, 1967). When evaluating global stress-strain data of soft materials, the observed inhomogeneous strain distributions along the samples need to be taken into account. Strain localization is a well-known issue in various types of materials, such as tendons, fascia (Butler et al., 1983; Zernicke et al., 1984) and bio-medical shape memory alloys (Grossmann et al., 2010; Wagner and Schaefer, 2010). Under such heterogeneous conditions, one must clearly distinguish between local strains, which can be determined via optical full-field DIC measurements, and global strains, which can be interpreted as the average of local strains and which are useful to interpret macroscopic stress-strain data. Extensometers that monitor only part of a specimen's gauge length might measure local strains that could differ strongly from global strains. Using contactless markers in close proximity to the grips, as done in our experimental setup, may be more appropriate to measure global strains of soft tissues without the influence of material slippage. The non-contact optical measurement technique can therefore be recommended as a useful tool to validate the strengths and weaknesses of custom-made clamping techniques against a standard, as we did for the partial plastination technique in this study. Given the necessity of developing novel clamping techniques that allow obtaining slippage-minimized data, this appears to be a useful valid approach. Several studies reported on effective novel tendon clamping techniques without visually detectable material slippage until material failure (Kiss et al., 2009; Shi et al., 2012). While we also did not directly observe visual material slippage for the partial plastination technique, our comparison of

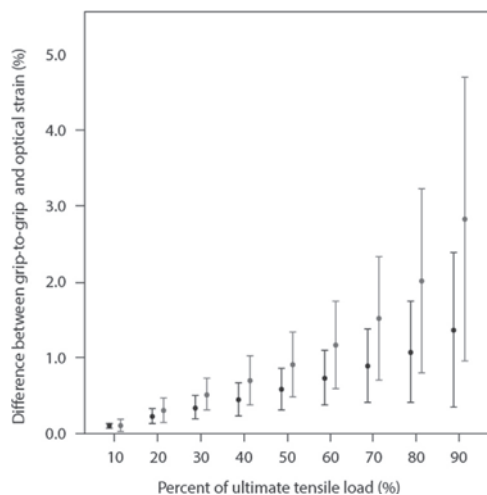


Fig. 4 – Mean differences between grip-to-grip and optical strain for partially plastinated samples (black dots) and non-plastinated samples (grey dots) at increasing tensile loads. Error bars indicate the 95% confidence intervals. Data reveal ongoing but clearly reduced material slippage with smaller 95% confidence intervals for partially plastinated samples compared to non-plastinated samples.

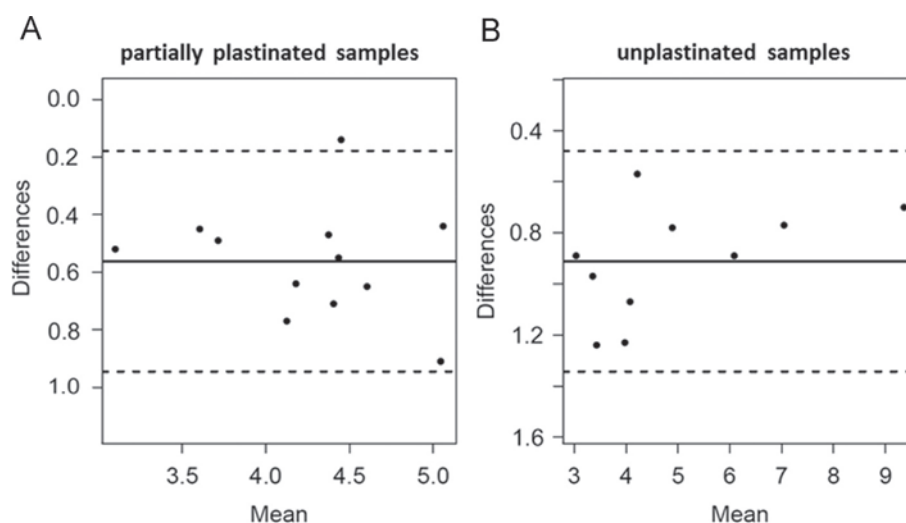


Fig. 5 – Bland-Altman plots of strain [%] at 50% of ultimate tensile load obtained by crosshead displacement compared to optical image tracking technique with bias (solid line) and 95% confidence intervals (dashed lines). The differences in strain of each tract sample are scattered around the mean for the partially plastinated samples (A) and the non-plastinated control group (B) and indicate the amount of material slippage.

crosshead displacement data with the optical measurements confirms that there is, indeed, slight material slippage.

5. Conclusions

This technical note highlights the importance of a quantitative description of introduced measurement errors when measuring the mechanical properties of thin connective tissues. Our data demonstrate a reduction of material slippage in thin connective tissue samples that increase the sensitivity of a corresponding experimental setup. The extent of the introduced material slippage found in this study can help identifying alterations in soft tissue mechanics beyond the errors introduced by material slippage.

Acknowledgements

The authors would like to thank Christine Auste for helping with the figures and Lisa Peterson for her aid with language issues, and Doris Oriwol for her support with the statistics. Steffen Klaus and Christoph Wollschläger assisted with the experimental setup.

REFERENCES

- Abrahams, M., 1967. Mechanical behaviour of tendon in vitro. *Med. Biol. Eng.* 5 (5), 433–443.
- Aspden, R.M., 2005. Agreement between two experimental measures or between experiment and theory. *J. Biomech.* 38 (10), 2136–2137.
- Bland, M.J., Altman, D.G., 1986. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 327 (8476), 307–310.
- Butler, D.L., Grood, E.S., Noyes, F.R., Zernicke, R.F., Brackett, K., 1984. Effects of structure and strain measurement technique on the material properties of young human tendons and fascia. *J. Biomech.* 17 (8), 579–596.
- Butler, D.L., Grood, E.S., Zernicke, R.F., Hefzy, M.S., Noyes, F.R., 1983. Nonuniform surface strains in young human tendons and fascia. In: 29th Orthopaedic Research Society, 8.
- Cheng, T., Dai, C., Gan, R.Z., 2007. Viscoelastic properties of human tympanic membrane. *Ann. Biomed. Eng.* 35 (2), 305–314.
- Chimich, D., Shrive, N., Frank, C., Marchuk, L., Bray, R., 1992. Water content alters viscoelastic behaviour of the normal adolescent rabbit medial collateral ligament. *J. Biomech.* 25 (8), 831–837.
- Fung, Y.C., Sobin, S.S., 1981. The retained elasticity of elastin under fixation agents. *J. Biomech. Eng.* 103 (2), 121–122.
- Grossmann, C., Schaefer, A., Wagner, M.F.-X., 2010. A finite element study on localized deformation and functional fatigue in pseudoelastic NiTi strips. *Mater. Sci. Eng., A* 527 (4), 1172–1178.
- Hammer, N., Huster, D., Fritsch, S., Hädrich, C., Koch, H., Schmidt, P., Sichtung, F., Wagner, M.F.-X., Boldt, A., 2014. Do cells contribute to tendon and ligament biomechanics? e105037. *PLoS ONE* 9 (8) 10.1371/journal.pone.0105037.
- Hammer, N., Lingslebe, U., Aust, G., Milani, T.L., Hädrich, C., Steinke, H., 2012. Ultimate stress and age-dependent deformation characteristics of the iliotibial tract. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 16, 81–86.
- Hofecker, G., Moser, P., Verzář, F., 1972. Chemische Spannungsänderungen von Kollagenfasern. *Gerontology* 18 (1), 28–35.
- Kiss, M.-O., Hagemeister, N., Levasseur, A., Fernandes, J., Lussier, B., Petit, Y., 2009. A low-cost thermoelectrically cooled tissue clamp for in vitro cyclic loading and load-to-failure testing of muscles and tendons. *Med. Eng. Phys.* 31 (9), 1182–1186.
- Legerlotz, K., Riley, G.P., Screen, H.R.C., 2010. Specimen dimensions influence the measurement of material properties in tendon fascicles. *J. Biomech.* 43 (12), 2274–2280.
- Matthews, G.L., Keegan, K.G., Graham, H.L., 1996. Effects of tendon grip technique (frozen versus unfrozen) on in vitro surface strain measurements of the equine deep digital flexor tendon. *Am. J. Vet. Res.* 57 (1), 111–115.
- McLaughlin, P., 2013. Testing agreement between a new method and the gold standard—how do we test?. *J. Biomech.* 46 (16), 2757–2760.
- Merican, A.M., Sanghavi, S., Iranpour, F., Amis, A.A., 2009. The structural properties of the lateral retinaculum and capsular complex of the knee. *J. Biomech.* 42 (14), 2323–2329.
- Ng, B.H., Chou, S.M., Krishna, V., 2005a. The influence of gripping techniques on the tensile properties of tendons. *Proc. Inst. Mech. Eng. Part H: J. Eng. Med.* 219 (5), 349–354.
- Ng, B.H., Chou, S.M., Lim, B.H., Chong, A., 2005b. The changes in the tensile properties of tendons after freeze storage in saline solution. *Proc. Inst. Mech. Eng. Part H: J. Eng. Med.* 219 (6), 387–392.
- Reyes, A.M., Jahr, H., van Schie, H T M, Weinans, H., Zadpoor, A.A., 2014. Prediction of the elastic strain limit of tendons. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 30 324–338 (10) 1016/j.jmbbm.2013.11.020.
- Riemersa, D.J., Schamhardt, H.C., 1982. The cryo-jaw, a clamp designed for in vitro rheology studies of horse digital flexor tendons. *J. Biomech.* 15 (8), 619–620.
- Schechtman, H., Bader, D.L., 1997. In vitro fatigue of human tendons. *J. Biomech.* 30 (8), 829–835.
- Schechtman, H., Bader, D.L., 2002. Fatigue damage of human tendons. *J. Biomech.* 35 (3), 347–353.
- Seitz, A.M., Wolfram, U., Wiedenmann, C., Ignatius, A., Dürselen, L., 2012. Impact of measurement errors on the determination of the linear modulus of human meniscal attachments. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 10, 120–127.
- Shi, D., Wang, D., Wang, C., Liu, A., 2012. A novel, inexpensive and easy to use tendon clamp for in vitro biomechanical testing. *Med. Eng. Phys.* 34 (4), 516–520.
- Steinke, H., Lingslebe, U., Böhme, J., Slowik, V., Shim, V., Hädrich, C., Hammer, N., 2012. Deformation behavior of the iliotibial tract under different states of fixation. *Med. Eng. Phys.* 34 (9), 1221–1227.
- Takaza, M., Moerman, K.M., Gindre, J., Lyons, G., Simms, C.K., 2013. The anisotropic mechanical behaviour of passive skeletal muscle tissue subjected to large tensile strain. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 17, 209–220.
- Thornton, G.M., Shrive, N.G., Frank, C.B., 2001. Altering ligament water content affects ligament pre-stress and creep behavior. *J. Orthop. Res.* 19 (5), 845–851.
- Wagner, M.F.-X., Schaefer, A., 2010. Macroscopic versus local strain rates during tensile testing of pseudoelastic NiTi. *Scr. Mater.* 63 (8), 863–866.
- Wilhelm, K., 1974. Das Verhalten der menschlichen achillessehne im experiment bei statischer und dynamischer Belastung. *Res. Exp. Med.* 162 (4), 281–297.
- Wu, J.Z., Brumfield, A., Miller, G.R., Metheny, R., Cutlip, R.G., 2004. Comparison of mechanical properties of rat tibialis anterior tendon evaluated using two different approaches. *Biomed. Mater. Eng.* 14 (1), 13–22.
- Zernicke, R.F., Butler, D.L., Grood, E.S., Hefzy, M.S., 1984. Strain topography of human tendon and fascia. *J. Biomech. Eng.* 106 (2), 177–180.

Experimental Study

Pelvic Belt Effects on Sacroiliac Joint Ligaments: A Computational Approach to Understand Therapeutic Effects of Pelvic Belts

Freddy Sichting, MSc¹, Jerome Rossol, BSc², Odette Soisson, MD², Stefan Klima, MD¹, Thomas Milani, PhD¹, and Niels Hammer, MD²

From: Technische Universität Chemnitz, Germany; University of Leipzig, Germany.

Sichting is with the Department of Human Locomotion, Technische Universität Chemnitz, Chemnitz, German. Rossol, is with the Institute of Anatomy, University of Leipzig, Leipzig, Germany. Dr. Soisson is with the Institute of Anatomy, University of Leipzig, Leipzig, Germany. Dr. Klima is with the Trauma Surgery, University of Leipzig, Leipzig, Germany. Dr. Milani is with the Department of Human Locomotion, Technische Universität Chemnitz, Chemnitz, Germany. Dr. Hammer is with the Institute of Anatomy, University of Leipzig, Leipzig, Germany

Address Correspondence:

Freddy Sichting, MSc
Department of Human Locomotion, Technische Universität Chemnitz,
Thüringer Weg 11, 09126
Chemnitz, Germany
E-Mail: freddy.sichting@hsw.tu-chemnitz.de

Disclaimer on P.49

Manuscript received: 07-29-2013

Revised manuscript received:

09-08-2013

Accepted for publication: 09-11-2013

Free full manuscript:
www.painphysicianjournal.com

Background: The sacroiliac joint is a widely described source of low back pain. Therapeutic approaches to relieve pain include the application of pelvic belts. However, the effects of pelvic belts on sacroiliac joint ligaments as potential pain generators are mostly unknown.

Objectives: The aim of our study was to analyze the influence of pelvic belts on ligament load by means of a computer model.

Study Design: Experimental computer study using a finite element method.

Methods: A computer model of the human pelvis was created, comprising bones, ligaments, and cartilage. Detailed geometries, material properties of ligaments, and in-vivo pressure distribution patterns of a pelvic belt were implemented. The effects of pelvic belts on ligament strain were computed in the double-leg stance.

Results: Pelvic belts increase sacroiliac joint motion around the sagittal axis but decrease motion around the transverse axis. With pelvic belt application, most of the strained sacroiliac joint ligaments were relieved, especially the sacrospinous, sacrotuberous, and the interosseous sacroiliac ligaments. Sacroiliac joint motion and ligament strains were minute. These results agree with validation data from other studies.

Limitations: Assigning homogenous and linear material properties and excluding muscle forces are clear simplifications of the complex reality.

Conclusions: Pelvic belts alter sacroiliac joint motion and provide partial relief of ligament strain that is subjectively marked, although minimal in absolute terms. These findings confirm theories that besides being mechanical stabilizers, the sacroiliac joint ligaments are likely involved in neuromuscular feedback mechanisms. The results from our computer model help with unraveling the therapeutic mechanisms of pelvic belts.

Key words: Finite element computer study, low back pain, neuromuscular feedback, pelvic biomechanics, pelvic belt intervention, sacroiliac joint ligaments, sacroiliac joint motion

Pain Physician 2014; 17:43-51

The sacroiliac joint (SIJ) is regarded as a potential, but underestimated, source of low back pain (1-5), affecting 15% to 30% of individuals with chronic non-radicular pain (6-10). However, altered pelvic biomechanics that cause sacroiliac dysfunction and the involved anatomical structure are poorly understood and subject to ongoing debates (11-13).

One explanation may be the extensive network of strong ligaments and their role in SIJ control. The ligaments maintain the integrity of the joint and are also involved with limiting the extent of SIJ motion (14,15). In numerous studies the ligaments are regarded as mechanical stabilizers (16-20). Recent studies hypothesize that the ligaments may be

involved in sensory-motor control (18,21-25). These theories of ligament function are based on anatomical examinations and SIJ motion analysis. However, the aforementioned studies lack details on the loads transferred to the ligaments in SIJ motion.

Taking into account data on SIJ rotation of 2 to 4 degrees in body donors (26-28), Buford and coworkers (29) showed that this range of motion is potentially beyond the limits of physiological loading. Consequently, the ligaments could serve as potential pain generators, considering the nociceptive elements located inside the SIJ and the ligaments (30-33).

One strategy of conservative treatment of SIJ dysfunction is the use of pelvic belts (21). Recent studies determined the influence of pelvic compression on stability (20,34,35) and motor control (22,36). The described SIJ motion-reducing effects of pelvic belts led to the proposal that pelvic belts are also capable of relieving loaded ligaments. As yet, only one study has examined the influence of pelvic belts on ligament forces (37). Here, the simulation of pelvic belt effects revealed an unloading of the sacrotuberous ligaments, but also a loading of the sacrospinous ligaments. More data will help to understand how the ligaments are strained during pelvic belt application.

This study analyzes SIJ motion and ligament strain levels with and without pelvic belt application. A pelvic computer model was developed that comprises de-

tailed bony, ligamentous, and cartilaginous structures. We hypothesize that pelvic belts alter SIJ motion such that the most loaded ligaments are relieved. This could be a potential explanation for ligament-related pain reducing effects of pelvic belts.

METHODS

Geometry Creation

A finite element model of a pelvic ring of one male subject (29 years, body height 185 cm, body weight 69 kg) was established from computed tomography (Somatom® Volume ZoomScanner, Siemens AG, Erlangen, Germany; slice thickness = 0.5 mm, 777 slices). AMIRA 3.1.1 (VSG, Burlington, MA, USA) was used for semi-automatic segmentation of the bony geometries of the sacrum and both ilia, as well as the fifth lumbar vertebra and the cranial ends of both femora. The raw geometric data of all bones were then converted into so-called solid parts. Next, the single solid parts were assembled into a complete bony pelvis model by means of Geomagic software solutions (Geomagic, Morrisville, NC, USA). The gaps between the symphysis, the femora and the acetabulum, and the ventral portion of the SIJ were fused together by solid parts and defined as cartilage tissue. Finally, the assembly was imported into ANSYS Workbench (ANSYS, Inc., Canonsburg, PA, USA; Fig. 1). A total number of 210 spring elements

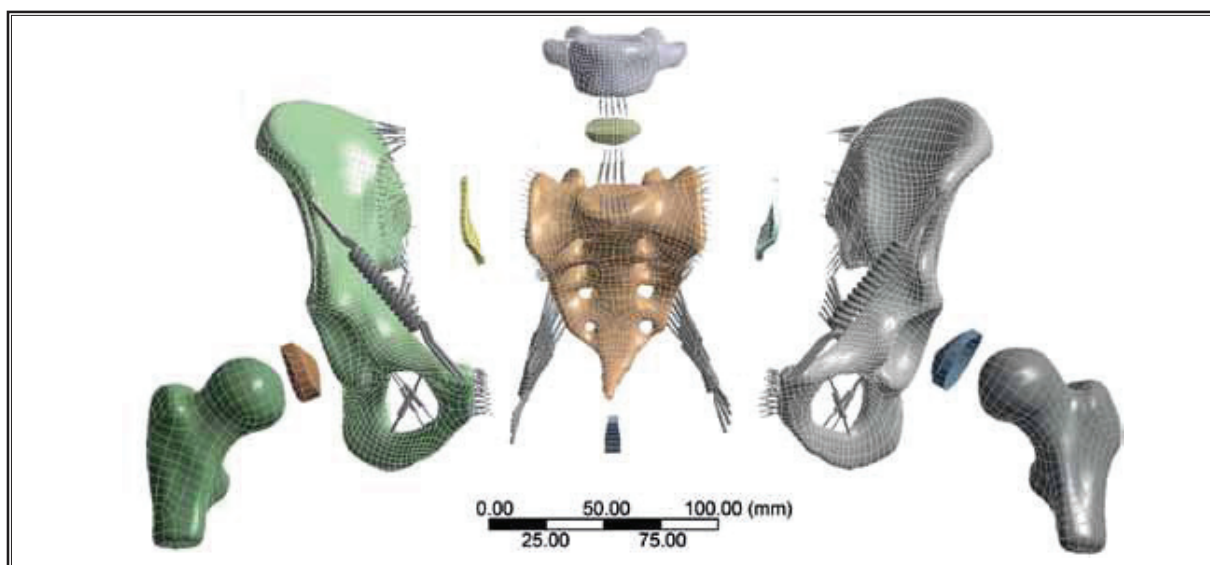


Fig. 1. Assembly drawing of the finite element model in the frontal view. The pelvic model consisted of detailed geometries from a computed tomography dataset of one healthy 29-year-old male and the ligament data on the basis of previous studies on the iliotibial tract. Both coxal bones, the sacrum and coccyx, the fifth lumbar vertebra, the proximal ends of both femora, and the connecting joint surfaces were integrated. A total of 210 spring elements represented the general fiber alignment of the sacroiliac joint ligaments.

were integrated, representing the ligaments and the obturator membrane. The number of spring elements representing each ligament is found in Table 1. All ligaments were modeled as a collection of truss elements, which exhibit stiffness only in tension and no resistance to compression force. The anatomical orientations and the mean cross sectional areas of the ligaments were chosen based on our own investigations (38-40).

Mesh Generation

All modeled bones were meshed with tetrahedral elements to create solid meshes. Mesh refinement studies were performed to reach optimal element size. The refinement was defined to be completed when a change in element size caused a maximum change of 5% in the analytical solutions (41). The final finite element model contained 151,642 nodes and 87,233 elements. The mean *element quality*, providing a composite quality metric that ranges between 0 and 1, was given as 0.75, indicating a good mesh quality.

Material Properties

The mechanical behavior of all tissues was simplified and represented as homogeneous, isotropic, and linearly elastic. Bony and cartilaginous element properties were chosen in accordance with previous pelvic models (42) and baseline material properties of ligaments were se-

lected from our own studies of iliotibial tract specimens (43,44). Table 2 provides detailed information about the material properties and number of elements of all tissues used for the finite element model.

Boundary Conditions

To investigate the influence of a pelvic belt on SIJ motion and associated ligament strain during double-leg stance, we applied the following boundary conditions: First, we fixed an area (960 mm²) of the ventral surface of sacrum between the first and second sacral vertebra. To simulate the double-leg stance position, an axial compressive force of 250 N was applied to the sacral promontory, and another axial compressive force of 250 N was applied to both femora (125 N each). Additionally, in-vivo pressure distribution measurements (pedar system, novel GmbH, Munich, Germany) were performed on one healthy male person (age 26 years, body height 190 cm, body weight 80 kg; Fig. 2A and B). These data were integrated into the finite element model to simulate the compression effect of the pelvic belt (SacroLoc, Bauerfeind AG, Zeulenroda-Triebes, Germany).

Data Analysis and Validation

SIJ motion was determined by measuring the displacement of defined marks on the sacrum and the

Table 1. *Sacroiliac joint ligament strain behavior of the initial double-leg stance scenario is compared to the application of a pelvic belt.*

Ligament	Number of Spring Elements	Loading Scenario without Pelvic Belt		Loading Scenario with Pelvic Belt			
		Strained	Slackened	Remained Strained	Strained to Slackened	Slackened to Strained	Remained Slackened
ASL	26	3 (0.00 to 0.03%)	23 (-0.22 to -0.01%)	3 (0.05 to 0.09%)	0	2 (0.02 to 0.04%)	21 (-0.27 to -0.01%)
ISL	15	6 (0.00 to 0.12%)	9 (-0.14 to -0.02%)	3 (0.00 to 0.09%)	3 (-0.14 to -0.06%)	1 (0.00%)	8 (-0.37 to -0.05%)
PSL	20	16 (0.00 to 0.22%)	4 (-0.26 to -0.03%)	12 (0.03 to 0.32%)	4 (-0.06 to -0.02%)	4 (0.01 to 0.30%)	0
LPSL	4	0	4 (-0.14 to -0.01%)	0	0	2 (0.01 to 0.03%)	2 (-0.08 to -0.03%)
SS	4	4 (0.06 to 0.08%)	0	4 (0.05 to 0.06%)	0	0	0
ST	5	5 (0.03 to 0.07%)	0	5 (0.02 to 0.06%)	0	0	0
ILL	9	3 (0.01 to 0.04%)	6 (-0.10 to -0.02%)	0	3 (-0.15 to -0.05%)	0	6 (-0.14 to -0.03%)

The total number of spring elements representing each one of the ligaments is given. Ligament strain behavior is presented as the number of spring elements being strained or slackened. Strained refers to a positive elongation, whereas a negative elongation is referred to as slackening. Respective strain levels are quoted in parentheses. ASL = anterior, ISL = interosseous, PSL = posterior, LPSL = long posterior sacroiliac ligament, SS = sacrospinous, ST = sacrotuberous, ILL = iliolumbar ligament.

Table 2. *Homogenous and linear material properties were assigned to the ligaments and the bones of the pelvis.*

Tissue	Number of Elements	Young's Modulus (MPa)	Poisson's Ratio
Bone		11 000	0.3
Sacrum	16 262		
Left ilium	15 244		
Right ilium	14 204		
5th lumbar vertebra	8 612		
Left femur	2 870		
Right femur	2 799		
Cartilage		150	0.3
Left articular surface	3 222		
Right articular surface	3 149		
Intervertebral disc	4 402		
Pubic symphysis	1 673		
Left femur	6 315		
Right femur	8 481		
Ligament	210	350	-

Young's modulus, as a measure of stiffness, represents the ratio of stress to strain under an elastic deformation. Poisson's ratio, as a measure of elasticity, describes the ratio of transverse strain to axial strain. The number of elements and material properties are given for each of the modeled structures.

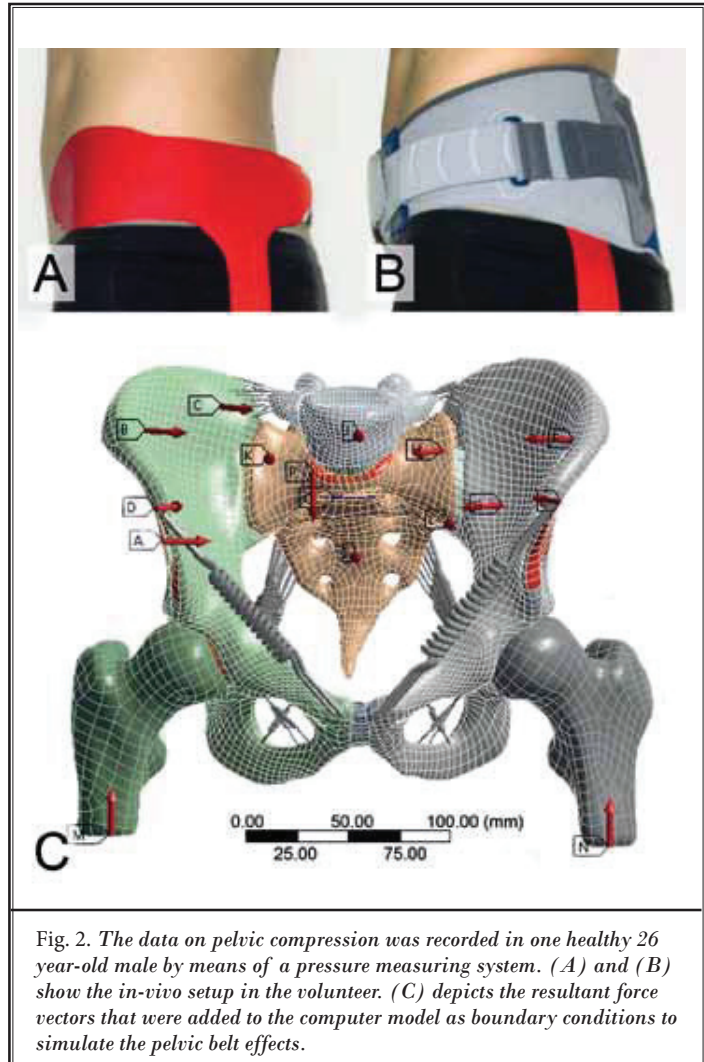


Fig. 2. The data on pelvic compression was recorded in one healthy 26 year-old male by means of a pressure measuring system. (A) and (B) show the in-vivo setup in the volunteer. (C) depicts the resultant force vectors that were added to the computer model as boundary conditions to simulate the pelvic belt effects.

right ilium referring to the goniometric method described by Vleeming et al (45). The strain level of each ligament was then calculated. The term "strain" will be used to describe a positive strain level, whereas a negative strain level will be referred to as "slackening." The numeric model was validated indirectly using the data from Varga et al (46) and Buford et al (29). Both studies fulfilled our requirements of comparable boundary conditions and applied forces

RESULTS

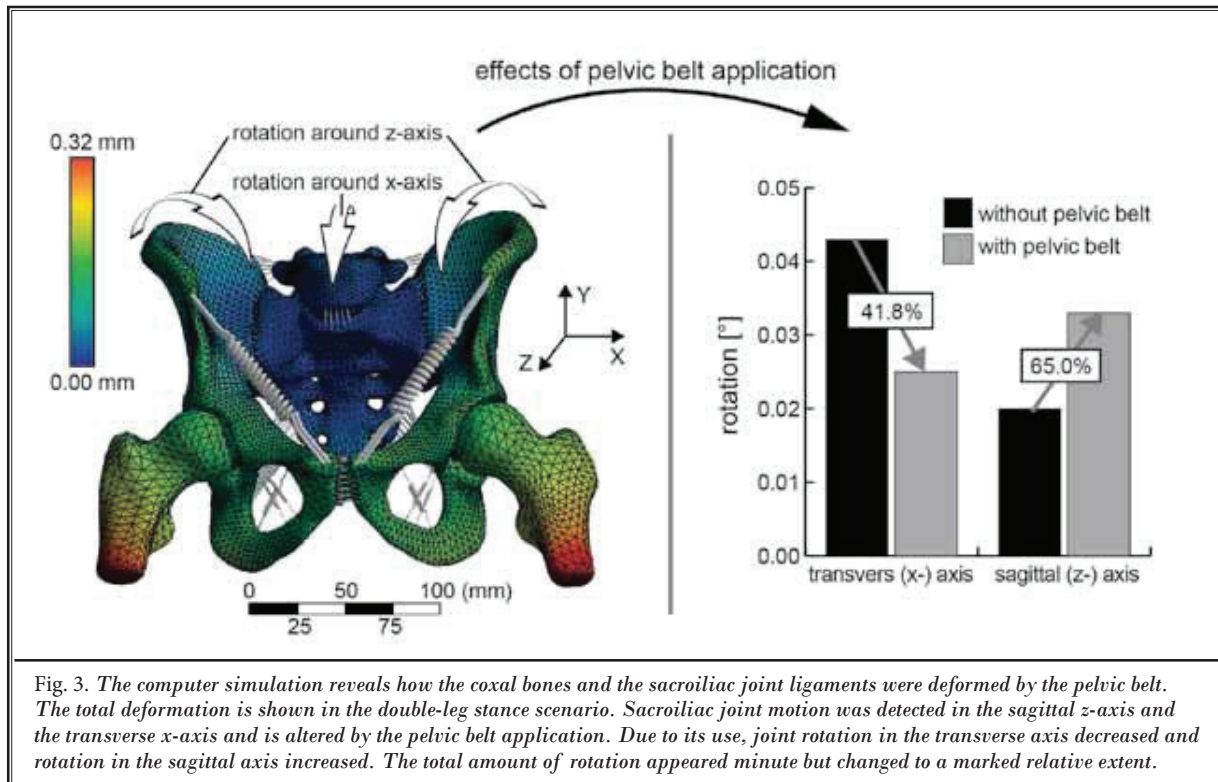
Pelvic Belts Alter SIJ Motion

The double-leg stance simulation without pelvic belt application provided a basic idea of the three-di-

mensional SIJ motion (Fig. 3). A rotation of the sacrum and the ilium around the transverse axis was observed. Additionally, the coxal bones rotated around a sagittal axis. The latter rotation can be described as an inward tilt of both iliac bones. When simulating pelvic belt application, the initial SIJ motion was altered as shown in Fig. 3.

Pelvic Belts Relieve Most Strained SIJ Ligaments

The effect of the pelvic belt was also reflected in the ligaments and the respective strain levels. The anterior, interosseous, posterior, and long posterior sacroiliac ligaments and the iliolumbar ligaments showed alignment- and region-dependent strain behavior. There-



fore, it was impossible to quote averaged ligament strains at this point. Instead, a quantitative description of the ligament strain behavior was given (strain levels were quoted in parentheses). For instance, the strain behavior of the interosseous ligaments (15 springs in our model) can be described as follows: Without pelvic belt application, 6 springs were strained (> 0.00 to 0.12%) and 9 springs were slackened (-0.14 to -0.02%). When the pelvic belt was applied, 3 springs remained strained (> 0.00 to 0.09%), 3 springs changed from a positive to a negative strain level (-0.14 to -0.06%), one spring changed from a slackened to a strained state ($> 0.00\%$), and 8 springs remained slackened (-0.37 to -0.05%). In all of the strained interosseous ligaments, the strain levels decreased. The results for the anterior, posterior, and long posterior sacroiliac ligaments and the iliolumbar ligaments are summarized in Table 1. The sacrospinous and the sacrotuberous ligaments were strained homogeneously. During pelvic belt application, mean strain values for sacrospinous and sacrotuberous ligaments decreased from 0.072% to 0.059% and from 0.048% to 0.041% , respectively, compared to the scenario without pelvic belt application.

Computer Simulation Shows Good Agreement with Literature

For the initial double-leg stance scenario, the displacements in our computer simulation agreed with the results from literature. Both our predictions and the experimental data from Varga et al (46) indicate minute displacements within the pelvic ring. SIJ motion and resultant pelvic ligament strains predicted by Buford and coworkers (29) were also consistent with our results. A summary of the validation data is shown in Table 3.

Discussion

This is the first study to quantify the influence of a pelvic belt on SIJ motion and the region-dependent effects on ligament loads. Our results support the hypothesis that pelvic belts alter SIJ motion to the effect that the most loaded ligaments are relieved. In particular, the pelvic belt caused a decrease in SIJ rotation around the transverse axis and an increase around the sagittal axis. These findings are in accordance with in-vitro effects of pelvic belts, as shown by Vleeming et al (47). The reduced rotation around the transverse axis can be attributed to an additional lateral compression on the

Table 3. Validation of the computer model using data from Buford et al (29) and Varga et al (46). We compared mean displacements between defined anatomical landmarks and resulting ligament strain for motion around the transversal axis. Underlying boundary conditions and applied loads were similar to our settings.

Literature	Validation Data	Predicted Results	Actual Results
Varga et al (46)	Mean displacement of the sacrum relative to the innominate bone	0.023 mm	0.003 mm
Varga et al (46)	Mean displacement of pubic symphysis in the plane of its anterior surface and in a horizontal line 1 cm below the inferior part of the symphyseal joint	0.022 mm	0.001 mm
Buford et al (29)	Mean strain of sacrotuberous ligament for motion around transversal axis of 0.043°	0.05%	0.08%
Buford et al (29)	Mean strain of sacrospinous ligament for motion around transversal axis of 0.043°	0.07%	0.04%

articular surfaces of the SIJ in the sense of force closure (36,48,49). In contrast, the increased inward tilt of the iliac bones in the frontal plane may be an effect of the lever arm of the pelvic belt. In our study, force application via the pelvic belt was localized mainly cranial to the articular surface and therefore above the center of rotation within the SIJ (50,51). Consequently, ligaments below the center of rotation tend to be further elongated, such as the caudal parts of the anterior and posterior sacroiliac ligaments. However, most of the ligaments were affected by the reduced SIJ motion around the transverse axis. The sacrospinous and sacrotuberous ligaments were relieved uniformly when a pelvic belt was applied. These results indirectly corroborate earlier findings that rotation around the transverse axis winds up and tenses the sacrospinous and sacrotuberous ligaments (12,45,52). Additionally, most interosseous, posterior, and long posterior sacroiliac ligaments, as well as the iliolumbar ligaments, were relieved. However, their strain values were non-uniform. These results appear to be realistic in the context of reports on various fiber directions of the interosseous and posterior sacroiliac ligament and the iliolumbar ligaments (17,38,40,51,53,54), and their function as multidirectional stabilizers (55). Concerning the sacrotuberous ligaments, our results are indicative with findings of Pel et al (37) who also determined an unloading of the sacrotuberous ligaments by coxal compression in a computational model. Yet, the results of Pel et al are hard to compare in general since their study only used one element to represent each of the ligaments and did not include the anterior and interosseous ligaments. A more advanced investigation of ligament load is provided by Eichenseer and coworkers (56). Their results show that during flexion, the most strained ligaments are the interosseous (about 3.5%), sacrospinous (about 3.5%), and sacrotuberous (about 2.0%) ligaments, supporting theories of the ligaments' stabilizing function

during SIJ flexion. The stated average ligament strains, however, do not coincide with our results, which are much smaller (0.01% to 0.3%). This may be attributed to different material properties, model accuracy, or to the different boundary conditions (57).

Also, the extent of SIJ motion differed markedly between our study and the data of others (26-28,58). As an example, the maximum SIJ rotation around the transverse axis found in our configuration was 0.05°, while it was up to 2.3° in the studies of Stuesson et al (27,28,58). This may be related to the fact that there is an inconsistency in the existing techniques for analyses of in vivo, in vitro, and computer-simulated SIJ motions. Thus, future studies are needed to assess reliable SIJ motion tracking during double-leg stance. However, our minute range of SIJ motion and resultant small strain levels are supported by previous in vitro and computational studies (46,59,60). Also, the relative effect of the pelvic belt can be stated as a marked alteration of SIJ rotation around the transverse and the sagittal axis with -41.8% and +65.0%, respectively.

These results support the findings of others that the ligaments are involved in sensory-motor control (48) and associated painful conditions of the SIJ (21,22,48). As mechanoreceptors are capable of detecting minute deformation changes, pelvic belt-altered SIJ motion changes might be experienced as substantial (48). As described elsewhere (61), tension of the interosseous, sacrospinous, and sacrotuberous ligaments increase muscle activation patterns, resulting in stiffening and compression of the SIJ in the sense of force closure. These findings indicate that in addition to being the region of potential pain generators, the SIJ ligaments may also be integrated in neuromuscular feedback loops. Relieved ligament strain levels result in a decrease or change of muscle activation (22,36,62). Previous studies found that muscle imbalance patterns of the hip muscles may cause low back pain (63). These theories

on interaction between ligaments and muscles grouped around the SIJ likely explain how pelvic belts contribute to reduced low back pain, as reviewed comprehensively elsewhere (12,21,64). This theory, however, requires more study to prove the quantitative involvement of ligaments in sensory-motor control.

The given data on the effects of pelvic belts on the ligaments have several limitations. It is a simplification of the complex reality to assign homogenous and linear material properties to examine the behavior of bones, cartilage, and ligaments. The same is true for the chosen boundary conditions, even if they were selected carefully to conform to natural SIJ motion. Furthermore, the model is limited by the exclusion of muscle forces from the osteoligamentous model, and the use of iliotibial tract material properties to characterize the ligament strain behavior. In total, this computational approach can be regarded as an abstraction of the pelvis. This approach, however, can help to understand the complexity of ligament biomechanics. To enhance the validity of our results, we suggest performing further validation and sensitivity studies of the computer model with patients or body donors. Additionally, reliable mechanical data for the ligaments are needed. Despite the relatively large number of spring elements used for the ligaments, even larger numbers of spring elements are required to deepen our understanding of the interaction of the ligaments on SIJ motion.

Virtual analyses of pelvic belt effects on the SIJ re-

veal that pelvic belts alter joint motion and cause partial relief of ligament strain. SIJ motion and ligament strain are altered to a minimal absolute amount, but relatively the effect is large. These findings indicate that beside the ligaments' function as passive stabilizers, they may also be involved in active feedback mechanisms as sensitive regulators of joint position. Consequently, pelvic belts would likely be of therapeutic effect in patients with pain originating from the SIJ.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank Heike Röder for her assistance in gaining computed tomography data, Michael Werner and Jochen Handwerk for their support with Ansys and Geomagic, and Lisa Peterson for proofreading the manuscript as a native speaker. The Bauerfeind AG provided financial support.

Disclaimer:

There was no external funding in the preparation of this manuscript.

Conflict of interest

Each author certifies that he or she, or a member of his or her immediate family, has no commercial association (i.e., consultancies, stock ownership, equity interest, patent/licensing arrangements, etc.) that might pose a conflict of interest in connection with the submitted manuscript.

REFERENCES

1. Cusi MF. Paradigm for assessment and treatment of SIJ mechanical dysfunction. *J Bodyw Mov Ther* 2010; 14:152-161.
2. Daum WJ. The sacroiliac joint: An underappreciated pain generator. *Am J Orthop* 1995; 24:475-478.
3. Fortin JD, Vilensky JA, Merkel GJ. Can the sacroiliac joint cause sciatica? *Pain Physician* 2003; 6:269-271.
4. Cohen SP. Sacroiliac joint pain: A comprehensive review of anatomy, diagnosis, and treatment. *Anesth Analg* 2005; 101:1440-1453.
5. Schwarzer AC, Aprill CN, Bogduk N. The sacroiliac joint in chronic low back pain. *Spine (Phila Pa 1976)* 1995; 20:31-37.
6. Forst SL, Wheeler MT, Fortin JD, Vilensky JA. The sacroiliac joint: Anatomy, physiology and clinical significance. *Pain Physician* 2006; 9:61-67.
7. Hansen HC, McKenzie-Brown AM, Cohen SP, Swicegood JR, Colson JD, Manchikanti L. Sacroiliac joint interventions: A systematic review. *Pain Physician* 2007; 10:165-184.
8. McKenzie-Brown AM, Shah RV, Sehgal N, Everett CR. A systematic review of sacroiliac joint interventions. *Pain Physician* 2005; 8:115-125.
9. Rupert MP, Lee M, Manchikanti L, Datta S, Cohen SP. Evaluation of sacroiliac joint interventions: a systematic appraisal of the literature. *Pain Physician* 2009; 12:399-418.
10. Simopoulos TT, Manchikanti L, Singh V, Gupta S, Hameed H, Diwan S et al. A systematic evaluation of prevalence and diagnostic accuracy of sacroiliac joint interventions. *Pain Physician* 2012; 15:E305-E344.
11. Freburger JK, Riddle DL. Using published evidence to guide the examination of the sacroiliac joint region. *Phys Ther* 2001; 81:1135-1143.
12. Vleeming A, Schuenke MD, Masi AT, Carreiro JE, Danneels L, Willard FH. The sacroiliac joint: An overview of its anatomy, function and potential clinical implications. *J Anat* 2012; 221:537-567.
13. Snijders CJ, Hermans PFG, Niesing R, Spoor CW, Stoeckart R. The influence of slouching and lumbar support on ilio-lumbar ligaments, intervertebral discs and sacroiliac joints. *Clin Biomech (Bristol, Avon)* 2004; 19:323-329.
14. Rothkötter HJ, Berner W. Failure load and displacement of the human sacroiliac joint under in vitro loading. *Arch*

- Orthop Trauma Surg* 1988; 107:283-287.
15. Aihara T, Takahashi K, Yamagata M, Moriya H, Shimada Y. Does the iliolumbar ligament prevent anterior displacement of the fifth lumbar vertebra with defects of the pars? *J Bone Joint Surg Br* 2000; 82:846-850.
16. Scolumb L, Terry RJ. Influence of the sacrotuberous and sacrospinous ligaments in limited movements of the sacroiliac joint. *JAMA* 1926; 87:307-309.
17. Pool-Goudzwaard A, van Hoek Dijke G, Mulder P, Spoor C, Snijders C, Stoelckart R. The iliolumbar ligament: Its influence on stability of the sacroiliac joint. *Clin Biomech (Bristol, Avon)* 2003; 18:99-105.
18. Panjabi MM. The stabilizing system of the spine. Part I. Function, dysfunction, adaptation, and enhancement. *J Spinal Disord* 1992; 5:383-389.
19. Dujardin FH, Roussignol X, Hossenbaccus M, Thomine JM. Experimental study of the sacroiliac joint micromotion in pelvic disruption. *J Orthop Trauma* 2002; 16:99-103.
20. Vleeming A, van Wingerden J, Dijkstra P, Stoelckart R, Snijders CJ, Stijnen T. Mobility of the sacroiliac joint in the elderly: a kinematic and rotational study. *Clin Biomech (Bristol, Avon)* 1992; 4:170-176.
21. Arumugam A, Milosavljevic S, Woodley S, Sole G. Effects of external pelvic compression on form closure, force closure, and neuromotor control of the lumbopelvic spine - A systematic review. *Man Ther* 2012; 17:275-284.
22. Jung H, Jeon H, Oh D, Kwon O. Effect of the pelvic compression belt on the hip extensor activation patterns of sacroiliac joint pain patients during one-leg standing: A pilot study. *Man Ther* 2012; 18:143-148.
23. Massoud Arab A, Reza Nourbakhsh M, Mohammadifar A. The relationship between hamstring length and gluteal muscle strength in individuals with sacroiliac joint dysfunction. *J Man Manip Ther* 2011; 19:5-10.
24. Shadmehr A, Jafarian Z, Talebian S. Changes in recruitment of pelvic stabilizer muscles in people with and without sacroiliac joint pain during the active straight-leg-raise test. *J Back Musculoskelet Rehabil* 2012; 25:27-32.
25. Bechtel R. Physical characteristics of the axial interosseous ligament of the human sacroiliac joint. *Spine J* 2001; 11:255-259.
26. Miller JA, Schultz AB, Andersson GB. Load-displacement behavior of sacroiliac joints. *J Orthop Res* 1987; 5:92-101.
27. Sturesson B, Uden A, Vleeming A. A radiostereometric analysis of movements of the sacroiliac joints during the standing hip flexion test. *Spine (Phila Pa 1976)* 2000; 25:364-368.
28. Sturesson B, Uden A, Vleeming A. A radiostereometric analysis of the movements of the sacroiliac joints in the reciprocal straddle position. *Spine (Phila Pa 1976)* 2000; 25:214-217.
29. Buford WL, Moulton DL, Gugala Z, Lindsey RW. The sacroiliac spine - computer simulation of motion and modeling of the ligaments. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2010; 2010:5117-5120.
30. Szadek KM, Hoogland PV, Zuurmond WW, Lange JJ de, Perez RS. Nociceptive nerve fibers in the sacroiliac joint in humans. *Reg Anesth Pain Med* 2008; 33:36-43.
31. Szadek KM, Hoogland PVJM, Zuurmond WWA, Lange JJ de, Perez RSGM. Possible nociceptive structures in the sacroiliac joint cartilage: An immunohistochemical study. *Clin Anat* 2010; 23:192-198.
32. Fortin JD, Washington WJ, Falco FJ. Three pathways between the sacroiliac joint and neural structures. *AJNR Am J Neuroradiol* 1999; 20:1429-1434.
33. Vilensky JA, O'Connor BL, Fortin JD, Merkel GJ, Jimenez AM, Scofield BA et al. Histologic analysis of neural elements in the human sacroiliac joint. *Spine (Phila Pa 1976)* 2002; 27:1202-1207.
34. Damen L, Spoor CW, Snijders CJ, Stam HJ. Does a pelvic belt influence sacroiliac joint laxity? *Clin Biomech (Bristol, Avon)* 2002; 17:495-498.
35. Mens JMA, Damen L, Snijders CJ, Stam HJ. The mechanical effect of a pelvic belt in patients with pregnancy-related pelvic pain. *Clin Biomech (Bristol, Avon)* 2006; 21:122-127.
36. Park K, Kim S, Oh D. Effects of the pelvic compression belt on gluteus medius, quadratus lumborum, and lumbar multifidus activities during side-lying hip abduction. *J Electromyogr Kinesiol* 2010; 20:1141-1145.
37. Pel JJM, Spoor CW, Goossens RHM, Pool-Goudzwaard AL. Biomechanical model study of pelvic belt influence on muscle and ligament forces. *J Biomech* 2008; 41:1878-1884.
38. Hammer N, Steinke H, Böhme J, Stadler J, Josten C, Spaniel-Borowski K. Description of the iliolumbar ligament for computer-assisted reconstruction. *Ann Anat* 2010; 192:162-167.
39. Hammer N, Steinke H, Slowik V, Josten C, Stadler J, Böhme J et al. The sacrotuberous and the sacrospinous ligament - a virtual reconstruction. *Ann Anat* 2009; 191:417-425.
40. Steinke H, Hammer N, Slowik V, Stadler J, Josten C, Böhme J et al. Novel insights into the sacroiliac joint ligaments. *Spine (Phila Pa 1976)* 2010; 35:257-263.
41. Jones AC, Wilcox RK. Finite element analysis of the spine: Towards a framework of verification, validation and sensitivity analysis. *Med Eng Phys* 2008; 30:1287-1304.
42. Hammer N, Steinke H, Lingslebe U, Bechmann I, Josten C, Slowik V et al. Ligamentous influence in pelvic load distribution. *Spine J* 2013; 13:1321-1330.
43. Hammer N, Lingslebe U, Aust G, Milani T, Hädrich C, Steinke H. Ultimate stress and age-dependent deformation characteristics of the iliotibial tract. *J Mech Behav Biomed Mater* 2012; 81-86.
44. Steinke H, Lingslebe U, Böhme J, Slowik V, Shim V, Hädrich C et al. Deformation behavior of the iliotibial tract under different states of fixation. *Med Eng Phys* 2012; 34:1221-1227.
45. Vleeming A, Stoelckart R, Snijders CJ. The sacrotuberous ligament; a conceptual approach to its dynamic role in stabilizing the sacroiliac joint. *Clin Biomech (Bristol, Avon)* 1989; 4:201-203.
46. Varga E, Dudas B, Tile M. Putative proprioceptive function of the pelvic ligaments: Biomechanical and histological studies. *Injury* 2008; 39:858-864.
47. Vleeming A, Buyruk HM, Stoelckart R, Karamursel S, Snijders CJ. An integrated therapy for peripartum pelvic instability: A study of the biomechanical effects of pelvic belts. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 166:1243-1247.
48. Vleeming A. *Movement Stability and Lumbopelvic Pain*. 2nd ed. Churchill Livingstone, Edinburgh, 2007.
49. Takasaki H, Iizawa T, Hall T, Nakamura T, Kaneko S. The influence of increasing sacroiliac joint force closure on the hip and lumbar spine extensor muscle firing pattern. *Man Ther* 2009; 14:484-489.
50. Farabeuf L. Sur l'anatomie et la physiologie des articulations sacro-iliaques avant et après la symphyséotomie. *Gynecol Obstet (Paris)* 1894; 41:407-420.
51. Puhakka KB, Melsen F, Jurik AG, Boel

- LW, Vesterby A, Egund N. MR imaging of the normal sacroiliac joint with correlation to histology. *Skeletal Radiol* 2004; 33:15-28.
52. Burman M. Tear of the sacrospinous and sacrotuberous ligaments. *J Bone Joint Surg Am* 1952; 34:331-339.
53. Weisl H. The ligaments of the sacro-iliac joint examined with particular reference to their function. *Acta Anat (Basel)* 1954;201-213.
54. Le Blanche AF, Mabi C, Bigot JM, Rousseau J, Trèves R, Outrequin G et al. The sacroiliac joint: Anatomical study in the coronal plane and MR correlation. *Surg Radiol Anat* 1996; 18:215-220.
55. Lee J, Yoo W. Application of posterior pelvic tilt taping for the treatment of chronic low back pain with sacroiliac joint dysfunction and increased sacral horizontal angle. *Phys Ther Sport* 2012; 13:279-285.
56. Eichenseer PH, Sybert DR, Cotton JR. A finite element analysis of sacroiliac joint ligaments in response to different loading conditions. *Spine (Phila Pa 1976)* 2011; 36:E1446-E1452.
57. Hao Z, Wan C, Gao X, Ji T. The effect of boundary condition on the biomechanics of a human pelvic joint under an axial compressive load: A three-dimensional finite element model. *J Biomech Eng* 2011; 133:101006.
58. Stureson B, Udén A, Onsten I. Can an external frame fixation reduce the movements in the sacroiliac joint? A radiostereometric analysis of 10 patients. *Acta Orthop Scand* 1999; 70:42-46.
59. Zheng N, Watson LG, Yong-Hing K. Biomechanical modelling of the human sacroiliac joint. *Med Biol Eng Comput* 1997; 35:77-82.
60. Jia Y, Cheng L, Yu G, Lou Y, Yu Y, Chen B, Ding Z. Digital image measurement of specimen deformation based on CCD cameras and Image J software: An application to human pelvic biomechanics. *Proc SPIE* 2007; doi:10.1117/12.768288.
61. Snijders CJ, Hermans PFG, Niesing R, Jan Kleinrensink G, Pool-Goudzwaard A. Effects of slouching and muscle contraction on the strain of the iliolumbar ligament. *Man Ther* 2008; 13:325-333.
62. O'Sullivan PB, Beales DJ, Beetham JA, Cripps J, Graf F, Lin IB et al. Altered motor control strategies in subjects with sacroiliac joint pain during the active straight-leg-raise test. *Spine (Phila Pa 1976)* 2002; 27:E1-8.
63. Beales DJ, O'Sullivan PB, Briffa NK. The effects of manual pelvic compression on trunk motor control during an active straight leg raise in chronic pelvic girdle pain subjects. *Man Ther* 2010; 15:190-199.
64. Cohen SP, Chen Y, Neufeld NJ. Sacroiliac joint pain: A comprehensive review of epidemiology, diagnosis and treatment. *Expert Rev Neurother* 2013; 13:99-116.

Journal of Biomedical Optics

SPIEDigitalLibrary.org/jbo

Combined spectrophotometry and tensile measurements of human connective tissues: potentials and limitations

Markus Ernstberger
Freddy Sichtung
Tobias Baselt
Peter Hartmann
Gabriela Aust
Niels Hammer

Combined spectro-photometry and tensile measurements of human connective tissues: potentials and limitations

Markus Ernstberger,^{a*} Freddy Sichting,^{b,c*} Tobias Baselt,^a Peter Hartmann,^a Gabriela Aust,^d and Niels Hammer^b

^aUniversity of Applied Sciences, Applied Physics and Computer Science, Westsächsische Hochschule Zwickau, 08056 Zwickau, Germany

^bUniversity of Leipzig, Institute of Anatomy, Faculty of Medicine, 04103 Leipzig, Germany

^cChemnitz University of Technology, Institute of Sport Science, Department Human Locomotion, 09126 Chemnitz, Germany

^dUniversity of Leipzig, Department of Surgery, Research Laboratories, Faculty of Medicine, 04103 Leipzig, Germany

Abstract. Strain-dependent transmission data of nine iliotibial tract specimens are determined using a custom-built optical setup with a halogen light source and an industrial norm material testing machine. Polarized light microscopy and hematoxylin-eosin staining indicated that lateral contraction of collagen structures is responsible for total intensity variations during a 20-cycle preconditioning and a 5-cycle tensile test. Tensile force progress is opposite to total transmission progress. Due to dehydration, wavelength-specific radiation intensity shifting is determined during the test, primarily noticeable in a water absorption band between 1400 and 1500 nm. The results show the capability of integrating spectrophotometry technology into biomechanics for determining structural alterations of human collagen due to applied strain. Being more sensitive to drying, spectrophotometry may likely serve as a quality control in stress-strain testing of biological structures. © 2013 Society of Photo-Optical Instrumentation Engineers (SPIE) [DOI: 10.1117/1.JBO.18.6.060506]

Keywords: human ligaments and tendons; lateral contraction; spectrophotometry; tensile test; transmission.

Paper 130170LR received Mar. 25, 2013; revised manuscript received May 16, 2013; accepted for publication May 20, 2013; published online Jun. 24, 2013.

1 Introduction

Optical testing is an issue of increasing interest in the field of biomedical engineering due to noncontact and noninvasive measuring of biomedical and, especially, biomechanical optical properties.^{1,2} This study concentrates on determining stress-strain data in combination with strain-dependent optical properties of human iliotibial tracts specimens by using a powerful halogen light bulb. Human iliotibial tract consist of areas with mostly parallel-aligned collagen fiber bundles.³ Due to the wide spectral range of the halogen light source,

wavelength-specific information about the behavior of collagen structures can be gained during tensile tests rather than using a monochromatic light source like a laser. No such optical tests have been performed to the authors' knowledge at this time.

In the most of the former studies dealing with optical examinations, lasers⁴⁻⁷ and video systems^{7,8} were applied for determining changes of mechanical properties in biomechanics of human tissues and prosthetics. In contrast to these publications, the aim of this study lies in gaining spectrophotometric data about the mechanical behavior of a model tissue of the skeletal and locomotor system: the iliotibial tract.

2 Experimental

2.1 Iliotibial Tract Preparation

Five iliotibial tracts were gained from five body donors (three males and two females, mean age 41.8 years, standard deviation 22.5 years, range 24 to 80 years) during autopsy at the Institute of Forensic Medicine and at the Institute of Anatomy, University of Leipzig, Germany. The local ethics committee approved the study. The 70-mm long tracts were sectioned lengthwise into two or three specimens each (total of 13 specimens), according to our previous setup, and plastinated partially to prevent material slippage,^{9,10} while keeping the 20-mm long central part of the specimens to be tested in the fresh condition. Widths and thicknesses of the specimens varied between the body donors. After clamping the specimen for material testing, a minimum cross-section was created centrally by means of a template. This cross-section was calculated (Datinf® Measure, Datinf GmbH, Tübingen, Germany) after casting the specimens with vinylpolysiloxane (HS-A Silikon Light Body, Henry Schein Inc., Melville, New York). All the specimens were kept at moist conditions before testing. For histological examination, two stretched and two unstretched tract specimens were dehydrated in ascending ethanol series before embedding them with paraffin. Serial sections of 10 μ m were stained with hematoxylin-eosin (HE),^{10,11} or left unstained to perform a polarized light microscopy.¹²

2.2 Experimental Setup

The experimental setup used in this study combines a custom-built system for spectrophotometry transmission measurements with an industrial norm material testing machine. A schematic view can be seen in Fig. 1.

The light source, a 100 W halogen light bulb, was coupled into a standard endoscope light cable (1) for guiding the radiation to the tissue by minimal transmission loss.¹³ The unfiltered radiation was then coupled out of the endoscope cable and free-space radiated onto the tissue's surface (2), where the diameter of the spot was 10 ± 1 mm. The specimens (3) were mounted in a Z20.0 uniaxial testing machine (Zwick GmbH & Co. KG, Ulm, Germany) with both ends clamped between the two jaws each (4). After 20 cycles of preconditioning with a load of 10 to 100 N,^{9,14} each specimen was loaded with another five cycles, ranging between 20 and 100 N. A 2.5-kN force transducer was used with an accuracy of <0.1%, according to DIN EN ISO 7500-1 (Ref. 15). Elongation rate was 10.5 ± 0.1 mm/min to ensure suitable acquisition of optical data, which was recorded at a frequency of 0.5 Hz. The transmitted radiation (5) was first collected by a custom-made 2:1 fiber combiner (Avantes,

*These authors contributed equally to this work.

Address all correspondence to: Niels Hammer, University of Leipzig, Institute of Anatomy, Faculty of Medicine, 04103 Leipzig, Germany. Tel: +49 (341) 9722053; Fax: +49 (341) 9722009; E-mail: niels.hammer@medizin.uni-leipzig.de

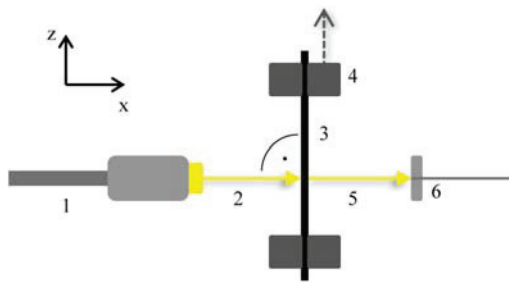


Fig. 1 Experimental setup for spectrophotometry on human tissues combined with tensile testing. Numbers (1) to (6) are explained in the text.

Apeldoorn, The Netherlands) (6) and afterward split into two spectrometers. Spectrometer 1, equipped with a 3048 px Si CCD, was sensitive from 400 to 1040 nm. Spectrometer 2, equipped with a 256 px InGaAs CCD, was sensitive from 1040 to 1700 nm. Both spectrometers were manufactured by Avantes, and worked on the basis of a Czerny-Turner grid monochromator. Average distance between light emission and detection was 10.0 ± 1.5 mm.

All experiments were performed at room temperature. Light scattering was not considered for evaluating the results since the diameter of the light spot was 10 ± 1 mm, and thus out-of-range of scattering measurements.

3 Results and Discussion

Stress-strain data and related optical properties of nine iliotibial tract specimens were recorded by means of the materials testing machine and the optical system. Depending on the initial cross-section area of each specimen, strain values ranged between 1.3% and 4.7% at the maximum cycle force of 100 N. Accordingly, stress values ranged between 5.8 and 14.2 N/mm. The strain-dependent transmission behavior of one exemplary specimen can be seen in Fig. 2.

When the specimen was strained (red line), transmission (blue circles) dropped immediately. Conversely, transmission increased when strain decreased. This may be caused by lateral contraction of the specimens. As confirmed by the histology samples, the collagen fibers approached to one another when straining the tissue samples. Hence, less light was transmitted at higher strains. In the HE-stained specimens, the aforementioned alteration was

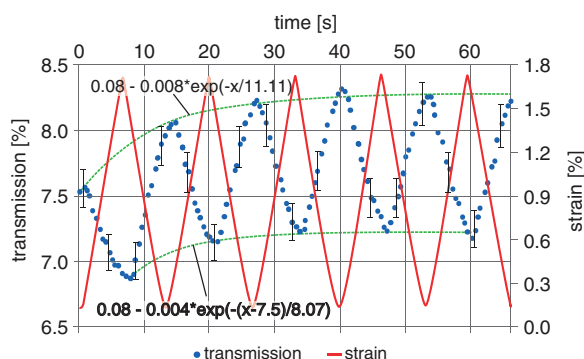


Fig. 2 Percentage of transmission of an iliotibial tract specimen during tensile testing. The red line shows the course of strain, and the blue dots are the transmission values (absolute %) recorded at a frequency of 0.5 Hz. The bars indicate the measuring inaccuracy. The two dotted green lines are a curve fitting of the local transmission maxima and minima.

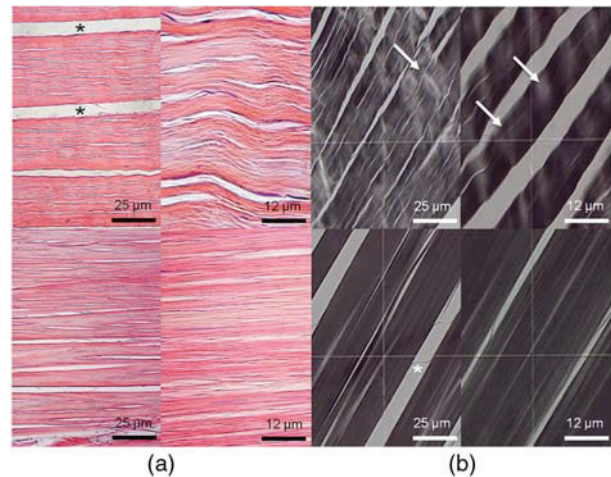


Fig. 3 (a) Hematoxylin-eosin (HE) staining of iliotibial tract specimens under unstrained (upper row) and strained conditions (lower row) at different magnifications. The unstrained tracts show a wavy pattern of the loosely arranged collagen fibers. The collagen within the strained tracts appears more parallel-aligned and compact. (b) Polarized light microscopy of the same specimens as in (a). Arrows indicate inhomogeneities of light transmission within the unstrained specimen. The collagen fibers within the strained tracts appear to be aligned closer and less translucent but homogeneous. Asterisks = fixation artifacts.

observed between the unstrained and the strained conditions (Fig. 3). Collagen fibers of the unstrained specimens had a wavy pattern, and were arranged loosely.

In contrast, the collagen fibers in the strained condition were more compact, and were aligned in a straight instead of a wavy manner. The strained fibers were less translucent as compared with the unstrained fibers. These findings were confirmed by polarized light microscopy (Fig. 3). Here, inhomogeneities of polarized light transmission were observed for the unstrained specimens due to their wavy appearance. Light transmission of the strained specimens was more homogeneous, and the specimens appeared to be less translucent due to the closely aligned collagen fiber bundles.

During the five cycles, the following trend could be determined in all nine cases: for recurring strain values, higher transmission values were recorded from cycle to cycle. Descriptive analyses showed that an exponential function best describes the observed behavior (Fig. 2). Since the partial plastination technique was used, material slippage can be excluded as a reason for cyclic transmission increase.^{9,10} Since the strain behavior remains steady over all the five testing cycles, no creep deformations could be observed during the testing process. Hence, the viscoelastic behavior might not be crucial for the exponential change of the transmission values.

Another explanation for the cyclic transmission increase might be the decreased water content of the specimens. In detail, spectral analyses showed characteristic changes in light absorption behavior of the specimens in the experimental progress. Especially at wavelengths between 1400 and 1500 nm transmission values increased, since water has its most influencing absorption band at 1450 nm concerning the whole investigated wavelength range from 400 to 1700 nm.¹⁶ Before testing, all specimens were kept in isotonic sodium chloride. After tensile testing, the specimens exhibited an extraordinarily dry surface in the area where the powerful halogen light source was radiating the tissue. The mean duration of testing was 93 s (standard

Table 1 Transmission values (minimum/maximum) of the five specimens during the five-cycle tensile test. Extended data of specimen no. 1 is plotted in Fig. 1.

Numbers	Transmission-% (min / max)				
	First cycle	Second cycle	Third cycle	Fourth cycle	Fifth cycle
1	6.9/7.6	7.1/8.1	7.2/8.2	7.2/8.3	7.2/8.3
2	11.1/11.7	11.3/12.0	11.6/12.2	11.8/12.4	12.0/12.5
3	8.3/9.5	8.4/9.5	8.5/9.6	8.5/9.7	8.6/9.7
4	5.6/7.2	5.8/7.4	5.8/7.5	5.9/7.6	5.9/7.6
5	3.6/5.6	3.6/5.4	3.7/5.4	3.7/5.5	3.8/5.5

deviation 23 s). Since the halogen light bulb used in our setup is a thermal radiator having its highest intensities in the near infrared range, its radiation strongly caused dehydration in addition to the evaporation-induced dehydration at room temperature (standard temperature and pressure).

Comparison of the single transmission data among the tract specimens revealed a high variation for the transmission degree (Table 1). Potential error sources are the minimally varying distances between light source and detector, as well as the thicknesses of the specimens. In addition to that, the collagen fibers are not homogeneously aligned across the overall specimen area, so the absolute transmission values may depend on the observed position on the tissue. However, a clear tendency in transmission behavior during the five-cycle tensile test, as described previously, was observed for all the specimens. Four specimens cannot be quantitatively discussed due to inconclusively delineated maxima and minima caused by directly irradiating the detector when lateral contracting occurred (undersized specimens). Nevertheless, these four specimens showed the same cyclic transmission behavior as described previously.

Averaged over all the five specimens and all the five cycles, mean variation of transmission values (maxima–minima) per cycle is 1.23 transmission-% with a standard deviation of 0.47 transmission-%.

4 Conclusion

Transmission data during a five-cycle tensile test were successfully recorded for five specimens gained from human iliotibial tract. In all nine cases, an inversely proportional transmission behavior concerning tensile force progress as well as drying phenomena could be determined; cyclic transmission alterations of the five specimens could be described quantitatively.

Optical testing reveals much more sensitive data regarding dehydration than the stress-strain data of the tensile test device. Certainly, optical data can only be gained in a defined area, depending on the size of the light spot on the tissue's surface, while stress-strain data are recorded representing the whole specimen. Within the study, the sensitive detection of the lateral contraction behavior of iliotibial tract specimens, and in this way a direct correlation between force progressing and transmission data, could be confirmed. In this regard, it is conceivable not just to describe a qualitative, but also a quantitative correlation between transmission degree and lateral contraction in further studies.

Mathematic coherences referring to specimen thickness, specimen straining, and transmission data could not be determined within this study due to high-quality criteria and a non applicable designed experimental setup; furthermore a larger number of specimens is recommended.

Prospectively, experiments acquiring strain-dependent reflection data and different anatomical regions of connective tissues containing collagen would be of further interest for developing noninvasive or noncontact measuring systems. In further tensile testing, dehydration should be minimized by using a less intense or different light source and moistening the specimens during testing. Thus, being more sensitive to drying phenomena, spectrophotometry may likely serve as a quality control, complementing existing methods to determine stress-strain data.

Acknowledgments

We would like to thank Christine Auste for taking the photos and Dr. Carsten Hädrich for providing the specimens.

References

1. H. Arimoto and M. Egawa, "Non-contact skin moisture measurement based on near-infrared spectroscopy," *Appl. Spectrosc.* **58**(12), 1439–1446 (2004).
2. J. Swartling, J. S. Dam, and S. Andersson-Engels, "Comparison of spatially and temporally resolved diffuse-reflectance measurement systems for determination of biomedical optical properties," *Appl. Opt.* **42**(22), 4612–4620 (2003).
3. K. Birnbaum et al., "Anatomical and biomechanical investigations of the iliotibial tract," *Surg. Radiol. Anat.* **26**(6), 433–446 (2004).
4. P. Heerde, "Employment of the speckle interferometry for the evaluation of the tension and deformation behavior for the material-dependent shape optimization of prosthetic constructions," Doctoral Thesis, Charité—University Medicine Berlin (GER) (2009).
5. G. Cox et al., "3-Dimensional imaging of collagen using second harmonic generation," *J. Struct. Biol.* **141**(1), 53–62 (2003).
6. M. S. Patterson, B. Chance, and B. C. Wilson, "Time resolved reflectance and transmittance for the noninvasive measurement of tissue optical properties," *Appl. Opt.* **28**(12), 2331–2336 (1989).
7. L. Dong-Xu et al., "Modulus of elasticity of human periodontal ligament by optical measurement and numerical simulation," *Angle Orthod.* **81**(2), 229–236 (2011).
8. J. Z. Wu et al., "Comparison of mechanical properties of rat tibialis anterior tendon evaluated using two different approaches," *Biomed. Mater. Eng.* **14**(1), 13–22 (2004).
9. H. Steinke et al., "Deformation behavior of the iliotibial tract under different states of fixation," *Med. Eng. Phys.* **34**(9), 1221–1227 (2012).
10. N. Hammer et al., "Ultimate stress and age-dependent deformation characteristics of the iliotibial tract," *J. Mech. Behav. Biomed.* **16**(1), 81–86 (2012).
11. M. A. Hayat, *Stains and Cytochemical Methods (Perspectives on Individual Differences)*, Plenum Press, New York, NY (1993).
12. F. Keller and G. Leutert, "Age dependence of collagen structures of the human heart," *Z. Gerontol.* **27**(3), 186–193 (1994).
13. M. Ernstberger et al., "Spectrophotometric measurements of human tissues for the detection of subcutaneous blood vessels in an endonasal endoscopic surgical approach," *J. Biophoton.* **6**(4), 310–313 (2013).
14. K. P. Quinn and B. A. Winkelstein, "Preconditioning is correlated with altered collagen fiber alignment in ligament," *J. Biomech. Eng.* **133**(6), 064506 (2011).
15. DIN Deutsches Institut für Normung e.V., *Metallic materials—verification of static uniaxial testing machines—Part 1: Tension/compression testing machines—verification and calibration of the force-measuring system (ISO/DIS 7500-1:2004); German version prEN ISO 7500-1:2004*, Beuth Verlag GmbH, Berlin (2004).
16. J. A. Curcio and C. C. Petty, "The near infrared absorption spectrum of liquid water," *J. Opt. Soc. Am.* **41**(5), 302 (1951).

**The heel pad paradox revisited: observations on the functional relationship
between plantar heel pad, Achilles tendon and plantar fascia**

Freddy Sichtung¹, Niels Hammer², Thomas L. Milani¹

¹ Institute of Human Movement Science and Health, Technische Universität Chemnitz, Chemnitz, Germany

² Institute of Anatomy, University of Leipzig, Leipzig, Germany

Anmerkung: Bei dem vorliegenden Manuskript handelt es sich um den Entwurf.

Abstract: 236 words

Manuscript: 3,333 words

References: 36

Tables: 3

Figures: 6

Key Words: Achilles tendon, deformation, in-vitro, plantar fascia, plantar heel pad, ultrasound

Correspondence to:

Freddy Sichtung

Institute of Human Movement Science and Health, Technische Universität Chemnitz

Thüringer Weg 5, 09126 Chemnitz, Germany

tel: +49 371 531 38823

E-Mail: freddy.sichtung@hsw.tu-chemnitz.de

Abstract

Collagen fibers of the Achilles tendon and plantar fascia have previously been found to insert into the chamber-like architecture of the plantar heel pad. We hypothesized that tension on the Achilles tendon or plantar fascia is thereby transferred to the heel pad, influencing its mechanical properties. To test this hypothesis, eleven below-knee specimens from six body donors were mounted in an upright position in a uniaxial testing machine with synchronized ultrasound recording of heel pad deformation. Ten scenarios were tested with varying Achilles tendon loads ranging between 0 and 200 N, with an intact and transected plantar fascia. Our results suggest that heel pad mechanics are largely influenced by the tensional load of the Achilles tendon. Maximum vertical heel pad deformation increased up to 28.8% with increasing Achilles tendon loads, compared to the unloaded condition. Besides vertical heel pad deformation, we measured an accompanying horizontal displacement of the heel pad. This displacement, however, decreased with increasing Achilles tendon loads. Our observations on the multidirectional influence of the Achilles tendon on heel pad deformation suggest that the Achilles tendon functionally anchors the heel pad under the calcaneus and that the heel pad mechanics are controlled by the Achilles tendon's tensional state, and therefore by triceps surae muscle contractions. This functional relationship could shed new light on the damping mechanism of the hindfoot and related pathologies. However, proving this remains challenging as will be shown in this study.

Introduction

Current research on the connective tissues of the foot has found continuous fibrous connections between plantar fascia and Achilles tendon (AT), previously believed to be separated (Shaw et al., 2008; Snow et al., 1995; Stecco et al., 2013; Wilke et al., 2015). These fibrous continuities seem to play an important role in transferring and distributing loads, absorbing energy peaks (Carlson et al., 2000; Cheng et al., 2008; Huijing, 2009; Wilke et al., 2015), and reducing the risk of overload-related pathologies (Stecco et al., 2014). Changes in this particular continuity are hypothesized to be associated with Achilles tendinopathy and chronic plantar heel pain (Bolívar et al., 2013; Carlson et al., 2000; Stecco et al., 2013). One fibrous connection which has been neglected in this context is the continuity of the Achilles tendon, plantar heel pad, and plantar fascia (PF). Collagen fibers originating from the AT and PF have been found to insert into the chamber-like architecture of the heel pad (Shaw et al., 2008; Snow and Bohne, 2006). The heel pad consists of largely incompressible fat globules encapsulated by fibrous septa (Blehschmidt; Bojsen-Møller and Lamoreux, 1979; Hsu et al., 2007; Jahss et al., 1992). Muscle tension exerted upon the heel pad or PF tightening during the gait cycle (Hicks, 1954; Shetty and Bendall, 2011) might be transferred to the fibrous septa of the heel pad. This allows us to hypothesize that the tensional load of AT and PF change either the tensional state of the fibrous septa or its alignment, and subsequently the mechanical properties of the heel pad.

Proving this hypothesis might address subject-specific differences in heel pad mechanics, the development of foot-related pathologies, or methodological issues like the significant divergence between data on heel pad stiffness recorded from *in vivo* and *in vitro* testing (Aerts et al., 1995). *In vitro* stiffness appears to be much greater than *in vivo*. This phenomenon, also known as the heel pad paradox, has been attributed to differences in the experimental setups (Aerts et al., 1995; Aerts et al., 1996; Bennett and Ker, 1990) or to missing blood supply (Weijers et al., 2005). However, there is still no conclusive explanation for this phenomenon. To date, tensional loads of the AT and PF as potential contributors to the alterations in stiffness properties between *in vivo* and *in vitro* data has not been investigated.

To this end, this study aimed to find experimental evidence proving a functional interrelation of AT, heel pad and PF. We performed an *in vitro* study using eleven feet from body donors to test the following hypotheses. First, we hypothesized that the deformation behavior of the heel pad depends on the tensional load of the AT. Second, we hypothesized that PF transection alters the mechanical behavior of the heel pad.

Materials and Methods

Specimen preparation

Eleven feet were obtained from six human body donors (4 females, 1 male; mean age 88.3 ± 3.6 years, range 83 to 92 years) for this study. While alive, all body donors gave their informed consent to the donation of their bodies for research purposes. Being part of the body donor program regulated by the Saxonian Death and Funeral Act of 1994 (3rd section, paragraph 18 item 8), institutional approval was obtained for the use of the post-mortem tissues from the Institute of Anatomy, University of Leipzig. The authors declare that all experiments were conducted according to the principles of the Declaration of Helsinki.

The post-mortem delay of the tissues was 48 hours or less and the tissues were immediately cooled at 3 °C until they were tested. The feet were removed from the lower limb by means of a transversal section on the distal 2/3 level of the tibia and fibula. Gelatin (20% by mass) was used to cover the soft tissues at the sectional area in order to prevent fluid loss during material testing. Custom-made metal implants were positioned into the medullary cavity of the tibia and fixed with bone cement (Biomet Plus Bone Cement, Biomet, Warsaw, IN, USA). Two titanium screws of individual lengths (Synthes, West Chester, PA, USA) were placed at the distal tibia, talus and calcaneus to immobilize the talocrural and the subtalar joint in a 0°-flexion-extension and a 0°-pronation-supination position (Fig. 1D). The AT was transected proximally and freed from surrounding tissues before custom-made clamps were mounted to it. Sand paper (CAMI 30; DIN ISO 6344) was placed between the clamps and the AT in a circumferential manner to minimize material slippage when the AT was loaded. For storage between preparation and testing, the feet were shock frozen at -85° C. Immediately before the tests, the feet were warmed to 37° in a water bath to minimize temperature-related changes in the material properties of the tissues.

Test setup and measurement protocol

A Z20.0 uniaxial testing machine (Zwick GmbH & Co. KG, Ulm, Germany) set to compression mode with a 5kN load cell was equipped to perform the mechanical testing. The setup is illustrated in figure 1A. It consisted of the below-knee specimen mounted in an upright position, an adjustment unit to apply load to the AT, an additional load cell to monitor AT load, a steel rod to keep the forefoot in a constant dorsal extension, and an ultrasound transducer covered in a box and placed under the heel to monitor heel pad deformation.

Prior to the tests, we applied a contact gel to the ultrasound box and adjusted the AT force. All specimens were slowly positioned above the ultrasound box until the calcaneal tuberosity was clearly visible at an axial preload of 10 N. Each specimen was loaded five times in a range

from 10 to 680 N (134 N/s) (Fig. 1B). AT force was not readjusted but constantly measured during the testing (Fig. 1C). The synchronized ultrasound recording started approximately 5 s prior to the first load cycle and stopped approximately 5 s after the last load cycle. A total of ten test scenarios were measured, with five different AT loads (0 N, 50 N, 100 N, 150 N, 200 N) at two different PF conditions (intact and transected), respectively (Tab. 1).

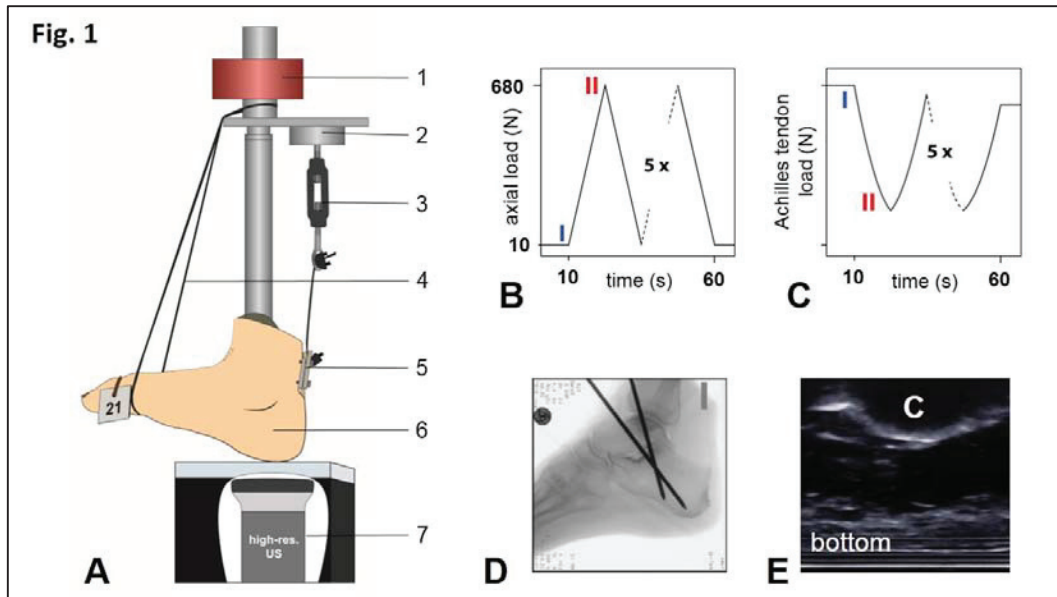


Figure 1: A) Illustration of the test-setup consisting of: 1 - machine load cell, 2 - additional load cell, 3 - adjustment unit to apply Achilles tendon load, 4 - steel rod, 5 - custom-made clamps, 6 - below-knee specimen, 7 - ultrasound unit. B) Load profile of the machine. C) Resulting load profile of the Achilles tendon during the test procedure. In consequence of an increasing axial load the Achilles tendon load decreased. D) Two titanium screws were placed at the distal tibia, talus and calcaneus to fix the talocrural and the subtalar joint at a 0°-flexion-extension and 0°- pronation-supination position. E) Ultrasound image of the heel pad with clear visibility of the calcaneal tuberosity

Ultrasound measurement and video processing

A high-resolution ultrasound system LOGIQ A5 (GE Healthcare, Little Chalfont, United Kingdom) set to B-mode and a frequency of 27 Hz allowed the visualization of the calcaneal tuberosity and its displacement when loaded. Heel pad thickness was measured from the skin surface to the nearest point at the calcaneal tuberosity. Heel pad deformation was defined as change in heel pad thickness by a displacement of the calcaneus. For each cycle, heel pad thickness was measured at defined time intervals with a total of 19 measurement points per load cycle.

Data processing and statistical analysis

The load history of the heel pad and total machine displacement, further defined as global displacement, were extracted from the machine recordings. Corresponding data on calcaneus displacement, defined as local displacement, were extracted from the accompanying

ultrasound recordings. Local load-displacement data of each specimen were then calculated as the mean of the last four consecutive load cycles. We analyzed the influence of AT load and PF condition on heel pad deformation. Due to the small sample size we decided on descriptive analysis by comparing the calculated mean values of each test scenario.

Table 1: Measurement protocol

Scenario No.	Axial load (loading speed)	Load cycles	Plantar fascia condition	Achilles tendon load
1	680 N (134 N/s)	5	intact	0 N
2				40.4 ± 9.2 N
3				86.2 ± 11.3 N
4				134.7 ± 8.7 N
5				181.3 ± 10.0 N
6			transected	0 N
7				41.5 ± 5.7 N
8				87.8 ± 7.9 N
9				135.8 ± 7.4 N
10				180.4 ± 10.7 N

Results

Eight of eleven foot specimens were tested successfully and included into further data evaluation. Three specimens were excluded from evaluation because of missing visibility of the calcaneal tuberosity in ultrasound at higher loads. Using the ultrasound recording, we were able to distinguish clearly between a vertical displacement of the calcaneus and an accompanied horizontal displacement in the anterior-posterior direction (Fig. 2A). This displacement behavior of the calcaneus was observed for all specimens.

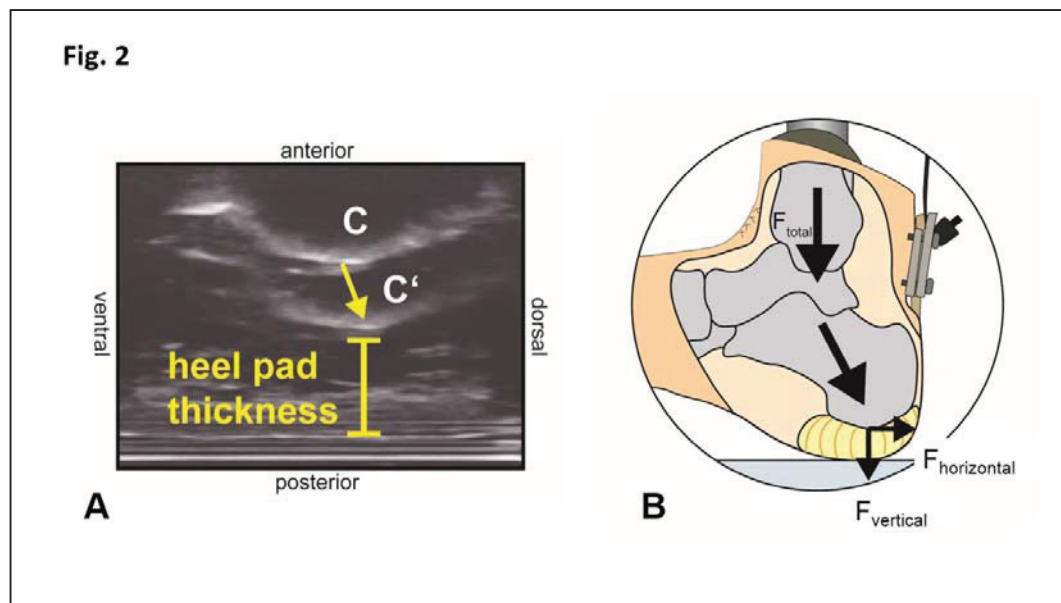


Figure 2: Fig. 2: A) Photomontage of calcaneus position at 10 N (C) and at 680 N axial load (C') uncovers a vertical and horizontal displacement. Heel pad thickness was measured as distance from the skin surface to the nearest calcaneal tuberosity. B) Schematic Illustration of the load transfer from top of the specimen to the interface between calcaneus and heel pad. Resultant forces at heel pad act in a vertical and horizontal direction.

In all valid foot specimens, the vertical displacement of the calcaneus (local displacement) was smaller than the accompanying foot displacement (global displacement) (Fig. 3). This difference was highest at an AT load of 0 N. With increasing AT loads, the local displacement increased exponentially while the global displacement decreased exponentially. Consequently, the difference between local and global displacement was smallest at an AT load of 200 N.

With regard to the hypothesized influence of AT load on heel pad mechanics, we found that the vertical displacement of the calcaneus increased with increasing AT load from 0 to 200 N and intact PF by 28.6% (Tab. 2). In contrast, the horizontal displacement was most pronounced when no AT load was applied. At 0 N AT load, the horizontal displacement was more than twice as high as the vertical displacement (Tab. 3). Increasing AT loads reduced the horizontal displacement of the calcaneus by 58.4%. The maximum vertical displacement of the calcaneus

increased with AT loading. At an AT load of 200 N the level of the vertical displacement exceeded the horizontal displacement.

With regard to the hypothesized influence of AT load on heel pad mechanics, we found that after transection of the PF, the vertical displacement of the calcaneus decreased slightly at low AT load levels (0 N to 50 N; Tab. 2). No differences were found for the horizontal calcaneus displacement (Tab. 3).

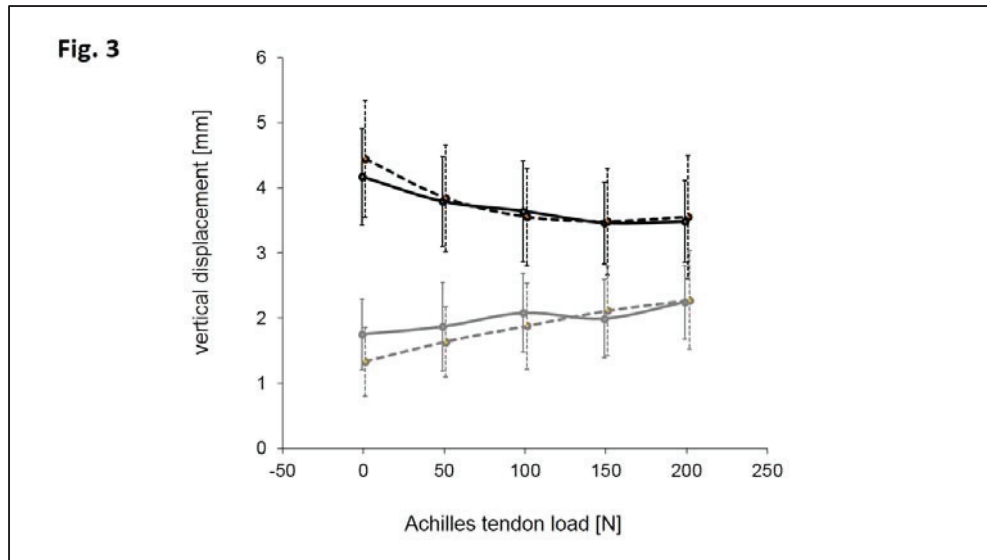


Figure 3: Comparison of the local vertical displacement of the calcaneus (grey and yellow line) and the according global foot displacement (blue and orange line) dependent on Achilles tendon load and PF condition (intact PF: blue and grey line; transected PF: orange and yellow line). Dots indicate the mean value and bars indicate the standard deviation.

Table 2: Influence of Achilles tendon load and plantar fascia (PF) condition on heel pad deformation (mean \pm SD)

		0N	50N	100N	150N	200N
	n	680 N axial load				
intact PF	8	1.75 (0.56)	1.87 (0.72)	2.08 (0.65)	1.99 (0.64)	2.25 (0.60)
transected PF	8	1.33 (0.57)	1.63 (0.59)	1.88 (0.71)	1.86 (0.27)	2.32 (0.79)

Table 3: Influence of Achilles tendon load and plantar fascia (PF) condition on horizontal displacement of calcaneus.

	n	0N	50N	100N	150N	200N
intact PF	8	4.23 (2.39)	3.06 (2.04)	2.11 (2.11)	1.87 (1.80)	1.76 (1.90)
transected PF	8	4.88 (2.19)	2.76 (1.92)	1.99 (1.00)	1.74 (1.22)	1.05 (1.02)

Discussion

This is the first study to quantitatively test the functional relationship between plantar heel pad, AT, and PF. We hypothesized that the deformation behavior of the heel pad is dependent on the tensional load of the AT. We also hypothesized that the deformation behavior of the heel pad changes after PF transection. The results from the heel pad compression testing support the first hypothesis. Heel pad deformation appears to be largely influenced by the tensional load of the AT.

Further, we found that ultrasound is an efficient method for distinguishing local heel pad deformation from global axial foot deformation. The synchronized recording of both crosshead displacement from the testing machine and ultrasound data enabled a clear differentiation between global displacement, represented by the traverse displacement, and a local displacement, represented by the displacement of the calcaneus and corresponding deformation of the heel pad in ultrasound. In all testing scenarios, global displacement was more pronounced than the corresponding local displacement. The force applied proximally to the tibia of each specimen was partly dissipated by additional attenuating elements, such as the cartilage of the ankle and subtalar joints (Aerts et al., 1995; Bennett and Ker, 1990), although bone screws immobilized the ankle joints. Global displacement decreased with increasing AT loads. This finding might be related to the stabilizing and tethering role of the AT, limiting the attenuating effect of the ankle joint by principles of force closure (Liebenson, 2004).

The ultrasound recording also enabled us to observe an additional horizontal displacement of the calcaneus in anterior-posterior direction (Fig. 2A). This observation might be explained by the forces acting at the interface of calcaneus and heel pad. Figure 2B illustrates the assumed force transmission starting at the distal tibia. The initial axial force applied by the testing machine resulted in vertical and horizontal forces acting upon the heel pad. Therefore, a vertical and horizontal displacement of the calcaneus can be expected. We suppose that the corresponding deformation of the heel pad is governed by the path of least resistance to forward motion of the calcaneus. More precisely, low resistance to a vertical displacement would result in high vertical deformation of the heel pad, while high resistance to a vertical displacement might favor displacement of the calcaneus in the horizontal direction. Our data support this model. The vertical displacement data of the calcaneus show a typical negative exponential progression, which is also supported by the data from previous studies (Aerts et al., 1995; Wearing et al., 2014; Wearing and Smeathers, 2011) (Fig. 4). This behavior indicates an exponentially increasing resistance of the heel pad against vertical compression. Interestingly, the horizontal displacement data of the calcaneus show an almost inverted progression. There was little horizontal displacement at small axial loads whereas the

displacement increased exponentially with increasing loads (Fig. 4). The increasing horizontal displacement may be due to the limited ability of the calcaneus to move vertically. Although such horizontal displacement has not been described quantitatively, some authors noted that the horizontal mobility could have an influence on the mechanical properties of the heel pad (Clercq et al., 1994; Thompson, 1983).

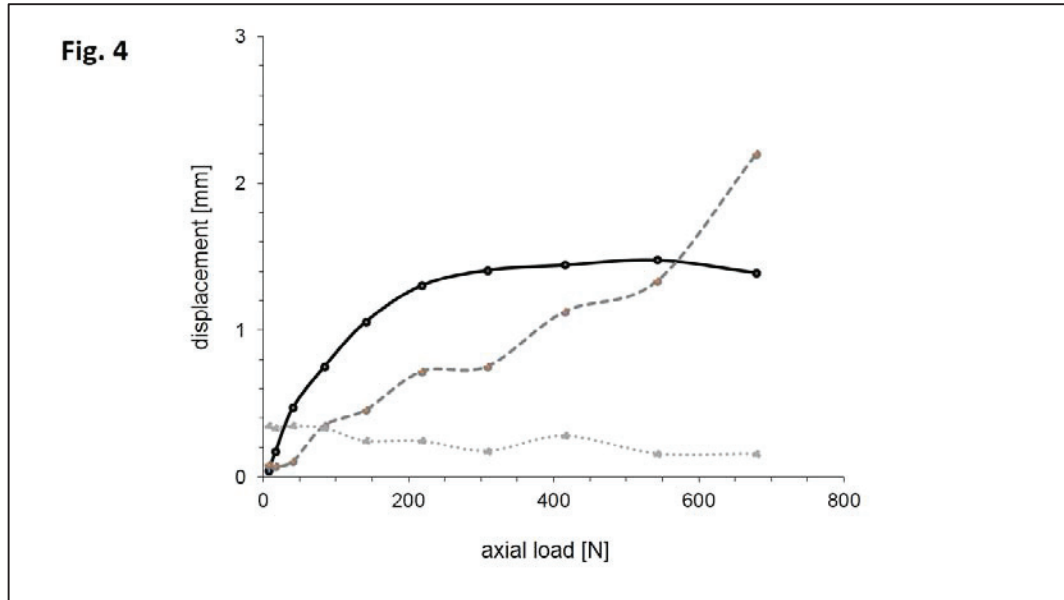


Figure 4: An example of a load-displacement curve. The vertical displacement of the calcaneus (solid black line), representing the axial deformation of the heel pad, shows a typical nonlinear progression. The accompanied horizontal displacement of the calcaneus (dashed gray line) shows an almost inverted progression. Additional recording of the skin displacement (light gray dotted line) showed no remarkable displacement. Thereby, slippage of the specimen into anterior-posterior direction could be excluded.

According to our hypotheses, we expected the deformation behavior of the heel pad to be influenced by the tensional load of the AT and PF acting through a fibrous continuity. Our results support only the interrelation of the AT and heel pad deformation, but not the interrelation of the PF. The missing effect of the PF may be due to possible insufficient tensional load during slight dorsal extension applied to the forefoot in this study. The methodology might not have been sufficient to represent the potential tensional load of the PF during the mid-stance and push-off phases (Bojsen-Møller and Lamoreux, 1979; Hicks, 1954). The mechanism accounting for the potential influence of the AT load remains unclear due to the limited external view onto the heel pad and the surrounding structures in our experimental setup. We therefore present three concepts which might explain our findings on the relationship of AT load and heel pad deformation in the vertical and horizontal directions.

Concept one: Heel pad mechanics are influenced by horizontal displacement of the foot

The first concept is based on the assumption that with increasing axial load the specimens tend to slip in a posterior direction due to the additional horizontal force as described above (Fig. 5A). The results displayed in table 2 show an increase of heel pad deformation with

increasing AT loads. In contrast, the transversal displacement decreased with increasing AT loads (Tab. 3). As the displacement is likely to follow the path of least resistance, it can be argued that due to a missing stabilizing effect of the AT the specimens slip in a posterior direction instead of exclusively compressing the heel pad axially. Thus, the measured influence of AT load on heel pad mechanics may result from a limitation of the measurement setup being unable to restrict horizontal motions of the specimens. To overcome this potential limitation, we conducted an additional measurement with one specimen, following the identical procedure described in the methods section but with the addition of HD-video recording (EXILIM High Speed EX-F1, Casio Computer Co., Ltd., Tokyo, Japan; 59 fps). An optical marker was attached to the lateral malleolus and its trajectories were tracked throughout each trial using video analysis software (Kinovea 0.8.15, open source project, www.kinovea.org). The video recording showed no horizontal displacement of the entire foot. Further, we attached a copper wire to the plantar skin surface of the heel, which was clearly visible in ultrasound. This enabled the clear distinction between calcaneus and skin displacement. The ultrasound recordings showed a horizontal displacement of the calcaneus but almost no corresponding displacement of the skin (Fig. 4), indicating almost no posterior slippage of the foot. Conclusively, this concept might not be sufficient to explain the influence of AT load on heel pad deformation.

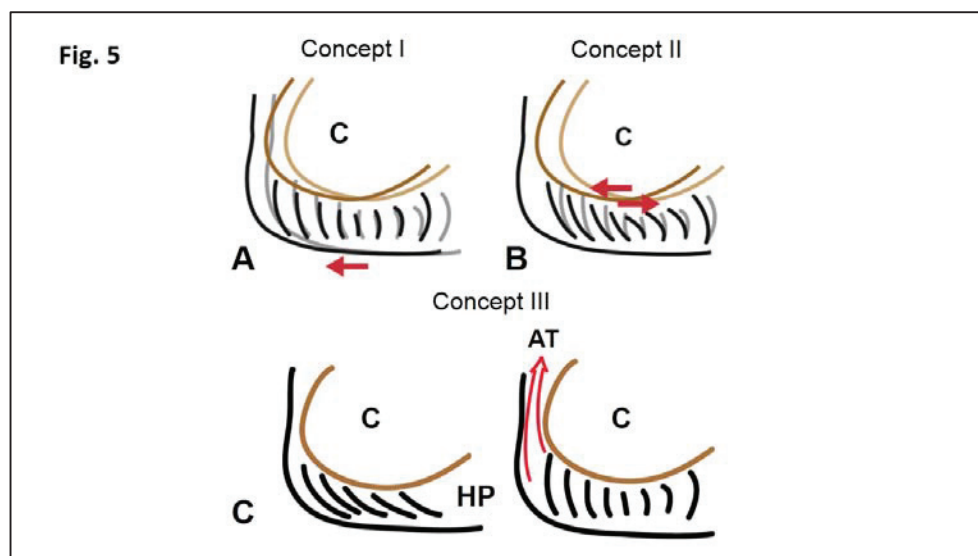


Figure 5: Illustration of three concepts which might explain the relationship of AT load and heel pad deformation. Concept I: Heel pad mechanics are influenced by horizontal displacement of the foot, Concept II: Heel pad deformation is influenced indirectly by horizontal displacement of the calcaneus, Concept III: Heel pad deformation is directly influenced by AT traction via fibrous septa.

Concept two: Heel pad deformation is influenced indirectly by horizontal displacement of the calcaneus

The second concept is based on the assumption that the fibrous connection between the AT and the heel pad plays an important role in anchoring the heel pad under the calcaneus (Prado et al., 2012; Snow and Bohne, 2006). A similar functional interrelation has been described for

the PF and the ball of the foot (Bojsen-Møller and Lamoreux, 1979). Under tension, the PF anchors the ball of the foot under the metatarsal bones and thereby reduces skin mobility. Assuming that the AT contributes to anchoring the heel pad under the calcaneus, an AT release would increase the heel pad mobility and allow a more pronounced horizontal displacement of the calcaneus relative to the heel pad and plantar skin. This explanation is consistent with the findings of our additional external recordings on skin movement and opens up the possibility of the following mechanism: In an unloaded condition without AT traction, the fibrous septa connecting the calcaneus with the plantar skin via the heel pad are aligned perpendicularly along the direction of the highest impacts (Blechs Schmidt; Jahss et al., 1992; Weaver et al., 2005). If the calcaneus shifts into a more posterior direction with the plantar skin surface remaining in place, the fibrous septa will not remain aligned in this manner (Fig. 5B). This would explain the decrease of vertical heel pad deformation. Tensional load of the AT would therefore indirectly govern vertical heel pad deformation. However, analyzing heel pad deformation in more detail revealed that most of the changes through AT load were prominent even at a relatively small loading stage of 85 N (Fig. 6). Minute horizontal heel pad deformation was found at this loading range. Therefore, it remains unclear whether AT load influences the alignment of the fibrous septa and the accompanying deformation of the heel pad indirectly by changing the mobility of the calcaneus or by directly pulling at the fibrous septa.

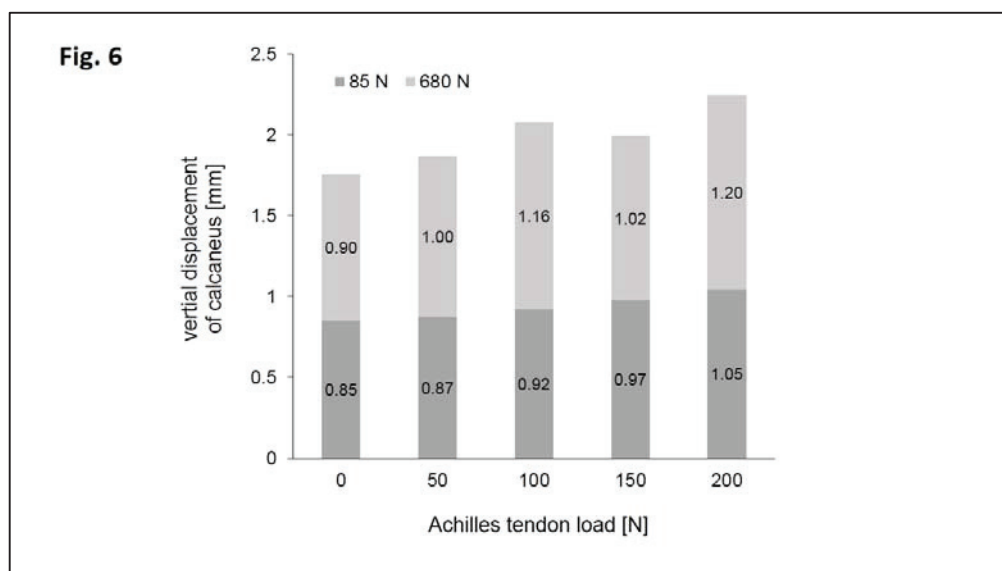


Figure 6: Axial Deformation of the heel pad dependent on Achilles tendon load. We additionally extracted the deformation data at a very early stage of load application (85 N). The amount of deformation from 0 N to 85 N is almost the same as from 85 N to 680 N. At 85 N the change of heel pad deformation by Achilles tendon load (0 N to 200 N) was 23.5% (0.85 mm to 1.05 mm) and at 680 N the change was 28.6% (1.75 mm to 2.25 mm).

Concept three: Heel pad deformation is directly influenced by AT traction via fibrous septa

The third concept is based on the assumption that the alignment of the fibrous septa of the heel pad is coordinated by AT tensional load. With no AT tension, the fibrous septa might be

loose and the chamber-like system of the heel pad collapse axially (Fig. 5C). Other studies concur that the fibrous septa mainly constitute the mechanical properties of the heel pad (Blechsmidt; Hsu et al., 1998; Hsu et al., 2000; Hsu et al., 2007; Jahss et al., 1992; Snook and Chrisman, 1972). Further, there is evidence that the AT and fibrous septa are connected by retinacular fibers (Shaw et al., 2008; Snow and Bohne, 2006). One could therefore conclude that the tensional force of the AT would be directly transferred to the septa of the heel pad, thereby changing heel pad compressibility. The tension of AT might pull the fibrous septa, setting the fat chamber upright and perpendicular toward the highest impact and thereby facilitating heel pad deformability.

In summary of the three concepts, the first one, primarily based on a presumed limitation of this study, might not account for the interrelationship between AT load and heel pad deformation as presented in this study. Instead, the second and third concept might both contribute to increased vertical heel pad deformation with increasing AT loads. However, certain limitations of the experimental design should be considered for both concepts. The restricted 2-dimensional ultrasound view of the heel pad might be a major limitation of this study, as it fails to visualize calcaneus translation in the third dimension. Although we performed additional tests to determine possible anterior-posterior sliding of the specimens, we were unable to clarify the possible effect of medial or lateral displacement of the specimens. We were also unable to completely immobilize the ankle joints in spite of surgical fusion. Furthermore, the applied AT load might not represent the tensional state *in vivo*. However, according to our results, the change of heel pad deformation was most pronounced between 0 N and 100 N AT loads. Further increase of the AT load only slightly changed heel pad deformation. An AT load of 100 N may be sufficient to develop the discussed interrelation of AT load and heel pad deformation.

Our results may help explain the divergence between *in-vivo* and *in-vitro* data. Parts of the higher *in-vitro* stiffness of heel pads (Aerts et al., 1995) might be explained by the missing tension effect of the AT. Therefore, we recommend considering AT load when measuring heel pad mechanics *in vitro*. In addition, our results raise the question of whether modelling approaches should include the functional interrelation of AT and heel pad. Currently applied constitutive formulations of the heel pad (Natali et al., 2010; Natali et al., 2012) do not consider the potential role of AT and thereby might be limited towards the validity of their predictions.

Although it was not the original purpose of this study, the results might also partly explain the biomechanics behind ulcer formation in the heel region of diabetic patients. A current theory describes an increase in heel pad stiffness being related to a deterioration and heterogeneous distribution of the fibrous septa of the heel pad (Dalal et al., 2013; Hsu et al., 2002; Hsu et al., 2012). This theory is in line with the results and underlying concepts two and three presented

in our study. Impaired attachments of the firm fibrous septa to the calcaneus, skin, and the AT would increase the mobility of the calcaneus in the anterior-posterior direction and decrease the vertical compressibility of the heel pad. Besides higher plantar pressures occurring in the heel region, the increased mobility of the calcaneus might induce additional shear forces. As shear forces are discussed as one of the main reasons of ulcer formation (Patry et al., 2013), future research should consider the direct and indirect functional interrelation of AT load and heel pad deformation. Investigations on the horizontal mobility of the heel pad against the calcaneus in diabetic patients would be of great interest. Besides its relevance in diabetic issues, the experimental evidence of a functional relationship between AT load and heel pad deformation should be considered in future discussions of heel pad deformation and its potential role in developing pathologies, such as chronic plantar heel pain.

Acknowledgements

We thank Gustav F. Preller and Lisa Peterson for their help translating the manuscript as native speakers. Matthias Oehme and Thomas Wolfskämpf assisted with the preparation of the feet. Ralph Dörfler was of great assistance during the material testing, and Florian Ebrecht and Nicolai Kram helped with the data collection.

Conflict of interest statement

All authors disclose any financial and personal relationships with other people or organisations that could have inappropriately influences this work.

References

- Aerts, P., Ker, R.F., Clercq, D.D., Ilsley, D.W., 1996. The effects of isolation on the mechanics of the human heel pad. *Journal of Anatomy* 188 (Pt 2), 417–423.
- Aerts, P., Ker, R.F., Clercq, D.D., Ilsley, D.W., Alexander, R.M., 1995. The mechanical properties of the human heel pad: a paradox resolved. *Journal of Biomechanics* 28, 1299–1308.
- Bennett, M.B., Ker, R.F., 1990. The mechanical properties of the human subcalcaneal fat pad in compression. *Journal of Anatomy* 171, 131.
- Blechs Schmidt, E. Die Architektur des Fersenpolsters. Gegenbaurs morphologisches Jahrbuch: Eine Zeitschrift für Anatomie 1934, 20–68.
- Bojsen-Møller, F., Lamoreux, L., 1979. Significance of free dorsiflexion of the toes in walking. *Acta Orthopaedica* 50, 471–479.
- Bolívar, Y.A., Munuera, P.V., Padillo, J.P., 2013. Relationship between tightness of the posterior muscles of the lower limb and plantar fasciitis. *Foot & Ankle International* 34, 42–48.
- Carlson, R.E., Fleming, L.L., Hutton, W.C., 2000. The biomechanical relationship between the tendoachilles, plantar fascia and metatarsophalangeal joint dorsiflexion angle. *Foot & Ankle International* 21, 18–25.
- Cheng, H.-Y.K., Lin, C.-L., Wang, H.-W., Chou, S.-W., 2008. Finite element analysis of plantar fascia under stretch—the relative contribution of windlass mechanism and Achilles tendon force. *Journal of Biomechanics* 41, 1937–1944.
- Clercq, D.D., Aerts, P., Kunnen, M., 1994. The mechanical characteristics of the human heel pad during foot strike in running: An in vivo cineradiographic study. *Journal of Biomechanics* 27, 1213–1222.
- Dalal, S., Widgerow, A.D., Evans, G.R., 2013. The plantar fat pad and the diabetic foot - a review. *International Wound Journal*.
- Hicks, J.H., 1954. The mechanics of the foot: II. The plantar aponeurosis and the arch. *Journal of Anatomy* 88, 25.
- Hsu, C.-C., Chen, C.P.-C., Lin, S.-C., Tsai, W.-C., Liu, H.-T., Lin, Y.-C., Lee, H.-J., Chen, W.-P., 2012. Determination of the augmentation effects of hyaluronic acid on different heel structures in amputated lower limbs of diabetic patients using ultrasound elastography. *Ultrasound in Medicine & Biology* 38, 943–952.
- Hsu, C.-C., Tsai, W.-C., Wang, C.-L., Pao, S.-H., Shau, Y.-W., Chuan, Y.-S., 2007. Microchambers and macrochambers in heel pads: are they functionally different? *Journal of Applied Physiology* 102, 2227–2231.
- Hsu, T.C., Wang, C.L., Shau, Y.W., Tang, F.T., Li, K.L., Chen, C.Y., 2000. Altered heel-pad mechanical properties in patients with Type 2 diabetes mellitus. *Diabetic Medicine : a Journal of the British Diabetic Association* 17, 854–859.
- Hsu, T.-C., Lee, Y.-S., Shau, Y.-W., 2002. Biomechanics of the heel pad for type 2 diabetic patients. *Clinical Biomechanics* 17, 291–296.
- Hsu, T.-C., Wang, C.-L., Tsai, W.-C., Kuo, J.-K., Tang, F.-T., 1998. Comparison of the mechanical properties of the heel pad between young and elderly adults. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation* 79, 1101–1104.
- Huijing, P.A., 2009. Epimuscular myofascial force transmission: a historical review and implications for new research. *International Society of Biomechanics Muybridge Award Lecture, Taipei, 2007. Journal of Biomechanics* 42, 9–21.
- Jahss, M.H., Michelson, J.D., Desai, P., Kaye, R., Kummer, F., Buschman, W., Watkins, F., Reich, S., 1992. Investigations into the fat pads of the sole of the foot: anatomy and histology. *Foot & Ankle International* 13, 233–242.
- Liebenson, C., 2004. The relationship of the sacroiliac joint, stabilization musculature, and lumbo-pelvic instability. *Journal of Bodywork and Movement Therapies* 8, 43–45.
- Natali, A.N., Fontanella, C.G., Carniel, E.L., 2010. Constitutive formulation and analysis of heel pad tissues mechanics. *Medical Engineering & Physics* 32, 516–522.

- Natali, A.N., Fontanella, C.G., Carniel, E.L., 2012. A numerical model for investigating the mechanics of calcaneal fat pad region. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 5, 216–223.
- Patry, J., Belley, R., Côté, M., Chateau-Degat, M.-L., 2013. Plantar pressures, plantar forces, and their influence on the pathogenesis of diabetic foot ulcers: a review. *Journal of the American Podiatric Medical Association* 103, 322–332.
- Prado, M.P., Fernandes, T.D., Mendes, Alberto Abussamra Moreira, Amodio, D.T., 2012. Surgical Stabilization of Calcaneal Fat Pad for Treatment of Structural Insufficiency and Instability. *Foot & Ankle International* 33, 340–343.
- Shaw, H.M., Vázquez, O.T., McGonagle, D., Bydder, G., Santer, R.M., Benjamin, M., 2008. Development of the human Achilles tendon enthesis organ. *Journal of Anatomy* 213, 718–724.
- Shetty, N., Bendall, S., 2011. Understanding the gait cycle, as it relates to the foot. *Orthopaedics and Trauma* 25, 236–240.
- Snook, G.A., Chrisman, O.D., 1972. The management of subcalcaneal pain. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 82, 163–168.
- Snow, S.W., Bohne, W.H.O., 2006. Observations on the fibrous retinacula of the heel pad. *Foot & Ankle International* 27, 632–635.
- Snow, S.W., Bohne, W.H.O., DiCarlo, E., Chang, V.K., 1995. Anatomy of the Achilles tendon and plantar fascia in relation to the calcaneus in various age groups. *Foot & Ankle International* 16, 418–421.
- Stecco, C., Cappellari, A., Macchi, V., Porzionato, A., Morra, A., Berizzi, A., Caro, R. de, 2014. The paratendineous tissues: an anatomical study of their role in the pathogenesis of tendinopathy. *Surgical and Radiologic Anatomy* 36, 561–572.
- Stecco, C., Corradin, M., Macchi, V., Morra, A., Porzionato, A., Biz, C., Caro, R. de, 2013. Plantar fascia anatomy and its relationship with Achilles tendon and paratenon. *Journal of Anatomy* 223, 665–676.
- Thompson, D.E., 1983. Pathomechanics of soft tissue damage. In: *The diabetic foot*. CV. Mosby Company St Louis, MO, pp. 149–161.
- Wearing, S.C., Hooper, S.L., Dubois, P., Smeathers, J.E., Dietze, A., 2014. Force-Deformation Properties of the Human Heel Pad during Barefoot Walking. *Medicine and Science in Sports and Exercise*.
- Wearing, S.C., Smeathers, J.E., 2011. The heel fat pad: mechanical properties and clinical applications. *Journal of Foot and Ankle Research* 4, 114.
- Weaver, J.B., Doyley, M., Cheung, Y., Kennedy, F., Madsen, E.L., Van Houten, Elijah EW, Paulsen, K., 2005. Imaging the shear modulus of the heel fat pads. *Clinical Biomechanics* 20, 312–319.
- Weijers, R.E., Kessels, A.G.H., Kemerink, G.J., 2005. The damping properties of the venous plexus of the heel region of the foot during simulated heelstrike. *Journal of Biomechanics* 38, 2423–2430.
- Wilke, J., Krause, F., Vogt, L., Banzer, W., 2015. What is evidence-based about myofascial chains? A systematic review. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*. doi: 10.1016/j.apmr.2015.07.023

Wissenschaftlicher Lebenslauf

M.Sc. Freddy Sichting, geboren am 21. September 1987 in Dresden

Werdegang

Schulische Bildung

August 1998 - Juli 2006

Allgemeine Hochschulreife, Sportgymnasium
Dresden, Dresden

Beruflicher Werdegang

seit April 2012

Wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Professur für
Bewegungswissenschaft, Fakultät für Human- und
Sozialwissenschaften, Technische Universität
Chemnitz

Oktober 2015

Forschungsaustausch am Department of Human
Evolutionary Biology, Harvard University, Cambridge,
MA (USA)

Oktober 2009 - Februar 2012

Studium an der Technischen Universität Chemnitz,
Master Sports Engineering, Vertiefungsrichtung:
Modellierung

Oktober 2006 - Januar 2010

Studium an der Technische Universität Chemnitz,
Bachelor Sports Engineering

Akademische Tätigkeiten

Lehre

- Funktionelle Anatomie und Biomechanik (Vorlesung)
- Biomechanik elastischer Gewebe (Seminar)
- Forschungsprojekt Biomechanik (Projekt)
- Perspectives in Biomechanics (Seminar, engl.)

Kommissionen

- Mitglied im Prüfungsausschuss des Masterstudiengangs Human Movement Science
- Mitglied im Prüfungsausschuss des Masterstudiengangs Sports Engineering
- Mitglied der Ethikkommission der Fakultät Human- und Sozialwissenschaften

Sonstiges

- Hauptverantwortliches Mitwirken an Aufbau und Gestaltung des Masterstudiengangs Human Movement Science

Auszeichnungen und Preise

- Posterpreis für herausragende wissenschaftliche Leistungen auf dem Gebiet der Medizin und Biowissenschaften, 10th Leipzig Research Festival for Life Sciences 2011, Leipzig
- Lehrpreis der Fakultät für Human- und Sozialwissenschaften (TU Chemnitz) für die Vorlesung „Möglichkeiten und Grenzen des Bewegungsapparates“ im Wintersemester 2012/2013
- Lehrpreis der Fakultät für Human- und Sozialwissenschaften (TU Chemnitz) für die Vorlesung „Möglichkeiten und Grenzen des Bewegungsapparates“ im Wintersemester 2013/2014
- Lehrpreis der Fakultät für Human- und Sozialwissenschaften (TU Chemnitz) für die Vorlesung „Funktionelle Anatomie und Biomechanik“ im Wintersemester 2014/2015

Liste der eigenen Veröffentlichungen

Artikel (referiert)

Soisson, O.; Lube, J.; Germano, A.; Hammer, K.-H.; Josten, C.; **Sichting, F.**; Winkler, D.; Milani, T.L.; Hammer, N.: Pelvic Belt Effects on Pelvic Morphometry, Muscle Activity and Body Balance in Patients with Sacroiliac Joint Dysfunction. PLOS ONE. 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0116739

Sichting, F.; Steinke, H.; Wagner, M F.-X.; Fritsch, S.; Hädrich, C.; Hammer, N.: Quantification of material slippage in the iliotibial tract when applying the partial plastination clamping technique. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials. 2015. doi:10.1016/j.jmbbm.2015.04.028

Sichting, F.; Rossol, J.; Soisson, O.; Klima, S.; Milani, T.; Hammer, N.: Pelvic Belt Effects on Sacroiliac Joint Ligaments: A Computational Approach to Understand Therapeutic Effects of Pelvic Belts. Pain Physician. 2014. 17(1):43-51. ISSN 1533-3159, URL: <http://painphysicianjournal.com/2014/january/2014;17;43-51.pdf>

Hammer, N.; Huster, D.; Fritsch, S.; Hädrich, C.; Koch, H.; Schmidt, P.; **Sichting, F.**; Wagner, M.-F.X.; Boldt, A.: Do Cells Contribute to Tendon and Ligament Biomechanics?. Plos One. Published: August 15, 2014. DOI: 10.1371/journal.pone.0105037

Ernstberger, M.; **Sichting, F.**; Baselt, T.; Hartmann, P.; Aust, G.; Hammer, N.: Combined spectrophotometry and tensile measurements of human connective tissues: potentials and limitations. Journal of Biomedical Optics. 2013. 18(6), doi: 10.1117/1.JBO.18.6.060506

Konferenzbeiträge

Sichting, F.; Hammer, N.; Milani, T.: Zur funktionellen Verbindung von Achillessehne, Plantarfaszie und Fersenfettpolster: Eine in - vitro Studie. 9. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomechanik. Bonn, 2015. (Vortrag)

Ebrecht, F.; Kram, N.; Schrader, N.; **Sichting, F.**: Auswirkung einer dynamisch zyklischen Belastung der Plantarfaszie auf deren Morphologie - eine Pilotstudie. 9. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomechanik. Bonn, 2015. (Poster)

Kram, N.; Schrader, R.; Schuffenhauer, D.; Böhme, M.; Rudelt, P.; Schindler, C.; **Sichting, F.**: Reaktionen der Plantarfaszie auf eine medial wirkende Druckpunktmassage. 9. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomechanik. Bonn, 2015. (Poster)

Sichting, F.; Hammer, N.; Milani, T.: On the interaction of the Achilles tendon, plantar heel pad and plantar fascia. XXV Congress of the International Society of Biomechanics. Glasgow (UK), 2015. (Vortrag)

Sichting, F.; Hammer, N.; Milani, T.: The Influence Of Plantar Fascia And Achilles Tendon Load On Human Heel Pad Deformation: An In-vitro Investigation. 4th International Fascia Research Congress. Washington DC, USA, 2015. (Vortrag)

Sichting, F.; Rossol, J.; Soisson, O.; Milani, T.; Hammer, N.: Can application of a pelvic belt reduce low back pain? A Finite Element Analysis. Vortrag, 1st South African Biomedical Engineering and Technology Conference, Stellenbosch (SA), 2014. (Vortrag)

Sichting, F.; Lindner, F.; Hammer, N.; Milani, T.: Is there a functional interdependence between Achilles tendon, plantar fascia and heel pad?. 7th World Congress of Biomechanics, Boston, MA (USA), 2014. (Poster)

Hammer, N.; Huster, D.; Fritsch, S.; Koch, H.; **Sichting, F.**; Wagner, M. F. X.; Boldt, A.: Do cells contribute to tendon and ligament biomechanics?, 7th World Congress of Biomechanics, Boston, MA (USA), 2014. (Poster)

Sichting, F.; Rossol, J.; Soisson, O.; Klima, S.; Milani, T.; Hammer, N.: Der Effekt von Beckenorthesen auf die Stabilität des Iliosakralgelenks: Eine Computersimulation zum Verständnis therapeutischer Effekte von Beckenorthesen. Vortrag, DKOU2014, Berlin, 2014. (Vortrag)

Sichting, F.; Rossol, J.; Soisson, O.; Milani, T.; Hammer, N.: Biomechanical effects of pelvic compression by means of a pelvic belt – a finite element simulation. Vortrag, XXIV Congress of the International Society of Biomechanics, Natal (Brasilien), 2013. (Vortrag)

Sichting, F.; Rossol, J.; Soisson, O.; Milani, T.; Hammer, N.: Effekte von Beckenorthesen auf die Bewegung des Beckenrings – eine numerische Analyse. Poster, 62. Jahrestagung der Norddeutschen Orthopäden- und Unfallchirurgenvereinigung e.V. (NOUV), Hamburg, 2013. (Poster)

Sichting, F.; Rossol, J.; Soisson, O.; Milani, T.; Hammer, N.: Numerische Simulation der Kompressionseffekte von Beckenorthesen auf die Nutationsbewegung des Kreuzdarmbeingelenks. Poster, 8. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomechanik, Ulm, 2013. (Poster)

Sichting, F.; Rossol, J.; Soisson, O.; Milani, T.; Hammer, N.: Biomechanische Effekte von Beckenorthesen auf die Kompression des Beckenrings. Vortrag, Tagung der dvs-Sektion Biomechanik, Chemnitz, 2013. (Vortrag)

Sichting, F.; Rossol, J.; Soisson, O.; Milani, T.; Bechmann, I.; Hammer, N.: Pelvic belt effects on sacroiliac joint motion – a numerical analysis. 30. Arbeitstagung der Anatomischen Gesellschaft in Würzburg 25.-27.09.2013, Würzburg. URL: http://anatomische-gesellschaft.de/images/data/30_AT/Vortraege_Poster_30AT_HP.pdf (Vortrag)

Sichting, F.; Steinke, H.; Hädrich, C.; Wagner, M. X.F; Fritsch, S.; Hammer, N.: Partial plastination – a novel approach to minimize material slippage in testing of soft tissues. In: J. Thiery, A. Beck-Sickinger und T. Arendt (Hg.): 11th Leipzig Research Festival for Life Sciences 2012, Poster, Leipzig, 2012. (Poster)

Heinrich, M.; **Sichting, F.**; Kroll, L.: Microinjection Molding of Polypropylene (PP) Filled with MWCNT: Influence of Processing Parameters on the Mechanical Properties. The 7th IEEE Nanotechnology Material and Devices Conference, NMDC 2012, Waikiki Beach, Hawaii, USA, 2012.

Heinrich, M.; **Sichting, F.**; Walther, M.; Kroll, L.: Large scale hybrid technologies for lightweight structures. The 1st MDEATED International Conference, Pattaya, Thailand, 2012.

Heinrich, M.; Kroll, L.; **Sichting, F.**: Process-related mechanical properties of conductive Nanocomposites based on CNT-filled Polypropylen. NanoSpain2012. Phantoms Foundation. Santander, Spain, 2012.

Walther, M.; Heinrich, M.; Kroll, L.; **Sichting, F.**: Microinjection molding of polypropylene filled with multiwall carbon nanotubes - Influence of processing parameters on the mechanical properties. Poster, 2nd nanotoday Conference, Waikoloa, USA, 2011. (Poster)

Sichting, F.: Biomechanical effects of pelvic compression by means of SacroLoc® orthesis. Unter Mitarbeit von U. Lingslebe, J. Böhme, C. Josten, R. Schnurpfeil, H. Steinke und N. Hammer. In: A. Beck-Sickinger T. Arendt J. Thiery (Hg.): Abstract Book - 10th Leipzig Research Festival for Life Sciences 2011. Leipzig, S. 338. ISBN 978-3-9810760-7-3. (Poster)

Lingslebe, U.: Minimierung von Materialschlupf durch partielle Plastination. Unter Mitarbeit von Hädrich, C., **Sichting, F.**, Steinke, H. und Hammer N.. In: A. Beck-Sickinger T. Arendt J. Thiery (Hg.): Abstract Book - 10th Leipzig Research Festival for Life Sciences 2011. Leipzig, S. 337. ISBN 978-3-9810760-7-3. (Poster)

Eingeladene Vorträge

Sichting, F.: Faszien - Biomechanische Aspekte. Vortrag, Jahrestreffen der Münchner Bildungsstätte für Orthopädieschuhtechnik, München, 2014

